



**MANEJO SOSTENIBLE DE LA SIGATOKA NEGRA  
(*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) DEL BANANO A TRAVÉS  
DEL USO DE PRODUCTOS ALTERNATIVOS DE BAJO  
IMPACTO AMBIENTAL**

**Maickol Andrés Mantilla Manjarrés**

**Andrés Felipe Quintero Mercado**

**Universidad del Magdalena  
Facultad de Ingeniería  
Programa de Ingeniería Agronómica  
Santa Marta D.T.C. E H.  
2013**



**MANEJO SOSTENIBLE DE LA SIGATOKA NEGRA  
(*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) DEL BANANO A TRAVÉS  
DEL USO DE PRODUCTOS ALTERNATIVOS DE BAJO  
IMPACTO AMBIENTAL**

**Maickol Andrés Mantilla Manjarrés**

**Andrés Felipe Quintero Mercado**

**Memoria de grado presentada como requisito parcial para  
optar al título de Ingeniero Agrónomo**

**M.Sc. Alberto Rafael Páez Redondo**

**Director Memoria de Grado**

**Universidad del Magdalena  
Facultad de Ingeniería  
Programa de Ingeniería Agronómica  
Santa Marta D.T.C. E H.  
2013**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad del Magdalena, y en especial al Programa de Ingeniería Agronómica, por nuestra formación como profesionales íntegros y competentes para contribuir con el desarrollo agrícola de la región y el país.

A la Vicerrectoría de investigación, por el apoyo económico y logístico para la ejecución del proyecto, previa participación y ejecución en la convocatoria interna de FONCIENCIAS 2011.

A nuestro tutor docente Alberto Páez Redondo, por confiar en nosotros y dedicarle tiempo a este proyecto, una persona digna de admirar; para él nuestros más grandes agradecimientos.

Al Ingeniero Leonardo Bustamante, por su idea de trabajo.

A Carlos Mejía, por haber iniciado el montaje de los bioensayos y su apoyo en la toma de información.

Al Ingeniero Adrián Leguía, por su aporte de conocimientos y asesoramiento en la recolección de muestras de Sigatoka.

**Maickol Andrés Mantilla Manjarrés**

**Y Andrés Felipe Quintero Mercado**

## DEDICATORIA

Inicialmente a DIOS, a mis padres, Alfredito y Fátima, que tuve su apoyo incondicional, su amor y comprensión y que en todo momento vieron en mi un modelo y una esperanza a seguir, siendo constantes y pacientes en este proceso y que forjaron y apoyaron mi sueño.

A mis hermanos Alfred y Keyla Mantilla Manjarrés, por su apoyo y constancia en todo momento.

A mi novia de toda la vida, Jelitza Jaramillo, por ser esa persona con la cual conté durante toda mi carrera y que fueron muchas jornadas estudiando juntos y tratando de forjar lo mejor para nuestro futuro a pesar de las dificultades que se nos presentaron en el camino.

A mi amigo, compañero y colega Andrés Quintero, por realizar este proyecto y ser de una manera u otra la persona con la que juntos observamos la posibilidad de cumplir un sueño.

A mi profesor, más que mi tutor de tesis, amigo el Ingeniero Alberto Rafael Páez Redondo, por su constancia, perseverancia, ayuda y guía en este proyecto, que fue el precursor y el motor de esto ya que nos dio ánimos sacrificando su tiempo para compartir con nosotros, por ser gestor de la investigación en nuestro programa.

A todos mis amigos y colegas que estuvieron ahí en todo momento, Stefanie Palmera, Nilson Perea, Carlos Mejía, Jordan Ramírez, Gipsy Polo, Ingeniero Pedro Mercado Carlos Mario Meza, Diego Toledo, Juan Camilo Duarte, Carlos julio Pérez.

A la planta docente del programa de Ingeniería Agronómica de la Universidad del Magdalena y a cada una de las personas que de alguna u otra manera, contribuyeron a que lograra esta meta que me propuse en la vida y que me ha permitido crecer intelectualmente como persona y como ser humano.

**Maickol Andrés Mantilla Manjarrés**

## **DEDICATORIA**

Agradecer es una palabra muy importante para los seres humanos, ya que demuestra el aprecio hacia lo bueno que hacen los demás por uno. Es por esto que primero quiero agradecer a los seres celestiales (Dios Padre, Hijo, Espíritu Santo y a la Siempre Virgen María de Guadalupe), que me han dado la fuerza para continuar cada día adelante pese a los obstáculos de la vida, y la sabiduría necesaria para confrontar las situaciones del diario vivir.

A mi Mamá, a mi Papá, a mis tías (Lidia y Maruja), como madres para mí, a mis primos (Beatriz, Lila, Gloria e Hijos, Arturo y esposa, Saúl, Carol, Davis, Diana, Eliana, Kike), a mi segunda familia (Betty, mi Madrina, Stella, Nico, Julieth, Esperanza, Blanquita), por colocar la materia prima en mi vida, que han hecho de mí lo que he sido, soy y seré.

A mis profesores: Páez, por confiar en mí y dedicarle tiempo a este proyecto, una persona digna de admirar, para él mis más grandes agradecimientos. Cathy, por ser como una madre para mí dentro y fuera de la Universidad. Piraneque, por sus consejos y ayuda incondicional. Paula, por brindarme su experiencia de vida como ejemplo para alcanzar el éxito profesional. Ingeniera Kira, por su amistad y colaboración. Ingeniero Pedro por su amistad incondicional y ayuda valiosa. A la Ingeniera Zaine por su apoyo en cada momento. A los demás docentes y directivos que siempre estuvieron a mi lado en mi ascenso profesional y personal.

A mis amigos, Nata, Zunilda, Lina, Charlie, Maick, Gipsy, Jelitza, Aura, Jennifer, Diana, Mayra, Hayder, Leidy, Edson, Alex, Jezid, Jordan, Irina y a los otros, que han sido y son mi gran apoyo emocional e incondicional.

**Andrés Felipe Quintero Mercado**

## TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	2
DEDICATORIA .....	3
DEDICATORIA .....	4
LISTA DE TABLAS .....	7
LISTA DE FIGURAS .....	11
LISTA DE ANEXOS .....	12
RESUMEN DEL PROYECTO .....	13
ABSTRACT .....	14
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	15
2. ANTECEDENTES.....	16
2.1 MANEJO CONVENCIONAL DE LA SIGATOKA NEGRA .....	16
2.2 MANEJO BIOLOGICO DE LA SIGATOKA NEGRA .....	17
2.3 MECANISMOS DE BIOCONTROL.....	18
2.4 MANEJO DE ENFERMEDADES A TRAVÉS DE EXTRACTOS VEGETALES 18	
2.5 MANEJO DE ENFERMEDADES A TRAVÉS DE INDUCCION DE RESISTENCIA.....	19
3. MARCO TEÓRICO.....	21
3.1 GENERALIDADES DE LA SIGATOKA NEGRA ( <i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet).....	21
3.2 PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS ALTERNATIVOS EVALUADOS ...	22
4. JUSTIFICACIÓN .....	26
5. OBJETIVOS.....	27
5.1 GENERAL .....	27
5.2 ESPECÍFICOS.....	27
6. METODOLOGÍA.....	28
6.1 AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE <i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet .....	28

6.2 PRODUCTOS EVALUADOS .....	33
6.3 EVALUACIÓN <i>in vitro</i> .....	35
6.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	39
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	42
7.1 EFECTO DE PRODUCTOS INDIVIDUALES .....	42
7.1.1 Crecimiento micelial de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	42
7.1.2 Concentración de conidias de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	48
7.1.3 Porcentaje de conidias viables de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	54
7.1.4. Discusión de los resultados.....	60
7.2 EFECTO DE PRODUCTOS EN MEZCLAS .....	62
7.2.1 Crecimiento micelial de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	62
7.2.2 Concentración de conidias de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	68
7.2.3 Porcentaje de conidias viables de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	74
7.2.4. Discusión de resultados .....	80
8. CONCLUSIONES .....	81
9. RECOMENDACIONES .....	82
BIBLIOGRAFÍA .....	83
ANEXOS .....	89

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de los productos evaluados por su efecto sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	34
Tabla 2. Descripción de los factores evaluados para medir la actividad individual de productos alternativos frente a <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	40
Tabla 3. Descripción de los factores evaluados para medir la actividad de productos alternativos combinados, frente a <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	41
Tabla 4. Análisis de Varianza para Crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> con productos individuales y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.....	43
Tabla 5. Valores promedios del crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> , bajo diferentes momentos de aplicación de productos. Universidad del Magdalena. 2013. ....	44
Tabla 6. Valores promedios del crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , ante diferentes productos, evaluados a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	44
Tabla 7. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados por su efecto sobre el crecimiento micelial de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	45
Tabla 8. Valores promedios de crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo diferentes tratamientos y momentos <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013...	47
Tabla 9. Análisis de Varianza para la concentración de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> con productos individuales y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.....	49



Tabla 10. Valores promedios de la concentración de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , ante diferentes productos, evaluados a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	50
Tabla 11. Valores promedios de la concentración de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> , bajo diferentes momentos de aplicación de productos. Universidad del Magdalena. 2013.....	50
Tabla 12. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados por su efecto sobre la concentración de conidias (conidias/ml) <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	51
Tabla 13. Valores promedios de la concentración de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo diferentes tratamientos y momentos <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	53
Tabla 14. Análisis de Varianza para las conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> con productos individuales y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.....	55
Tabla 15. Valores promedios de conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , ante diferentes productos, evaluados a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	56
Tabla 16. Valores promedios de conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> , bajo diferentes momentos de aplicación de productos. Universidad del Magdalena. 2013. ....	56
Tabla 17. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados por su efecto sobre la viabilidad de conidias (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	57
Tabla 18. Valores promedios de la viabilidad de conidias (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo diferentes tratamientos y momentos <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	59
Tabla 19. Análisis de Varianza para el crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> con mezcla de productos y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.....	63

Tabla 20. Valores promedios de crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , ante diferentes mezcla de productos, evaluados a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	64
Tabla 21. Valores promedios de crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo diferentes momentos de aplicación de mezcla de productos. Universidad del Magdalena. 2013.....	64
Tabla 22. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados, por su efecto sobre el crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	66
Tabla 23. Valores promedios del crecimiento micelial (cm) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo el efecto combinado de mezclas de productos y momentos de aplicación, a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	67
Tabla 24. Análisis de Varianza para el número de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> con mezcla de productos y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.....	69
Tabla 25. Valores promedios del número de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , ante diferentes mezcla de productos, evaluados a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	70
Tabla 26. Valores promedios del número de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo diferentes momentos de aplicación de mezcla de productos. Universidad del Magdalena. 2013.....	70
Tabla 27. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados, por su efecto sobre el número de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	72
Tabla 28. Valores promedios del número de conidias (conidias/ml) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo el efecto combinado de mezclas de productos y momentos de aplicación, a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013. ....	73
Tabla 29. Análisis de Varianza para las conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en pruebas de control <i>in vitro</i> con productos en mezclas y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.....	75

Tabla 30. Valores promedios de conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , ante diferentes mezcla de productos, evaluados a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	76
Tabla 31. Valores promedios de conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo diferentes momentos de aplicación de mezcla de productos. Universidad del Magdalena. 2013. ....	76
Tabla 32. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados, por su efecto sobre conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	77
Tabla 33. Valores promedios de conidias viables (%) de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , bajo el efecto combinado de mezclas de productos y momentos de aplicación, a nivel <i>in vitro</i> . Universidad del Magdalena. 2013.....	79

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fase de aislamiento y purificación de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet. Universidad del Magdalena. 2013 .	29
Figura 2. A- Ascosporas y B- Peritecios de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Foto tomada a 40x. Universidad del Magdalena. 2013....	31
Figura. 3 Siembra en suspensión del micelio de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en medio PAA. Universidad del Magdalena. 2013.....	32
Figura 4. Identificación de <i>Paracercospora fijiensis</i> . Foto tomada a 40x Universidad del Magdalena. 2013.....	32
Figura 5. Preparación de los discos con los productos evaluados tanto individuales como en mezclas. Universidad del Magdalena. 2013..	35
Figura 6. Discos con el producto o mezcla de productos, en una caja petri. Universidad del Magdalena. 2013.....	36
Figura 7. Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en medio PAA y con discos de productos. Universidad del Magdalena. 2013..	37
Figura 8. A- Conidia viable o normal, foto tomada a 100x y B- Conidia deforme de <i>Paracercospora fijiensis</i> . Foto tomada a 40x Universidad del Magdalena. 2013..	38
Figura 9. Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en medio PAA y con discos de productos. A- Crecimiento del testigo absoluto. B- Enfrentamiento con los productos. Universidad del Magdalena. 2013..	61

## LISTA DE ANEXOS

Anexo. 1 Formato de registro para evaluación <i>in vitro</i> de los productos sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> . Universidad del Magdalena. 2013.. .....	89
---	----

## RESUMEN DEL PROYECTO

La Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* Morelet), representa el 40% de los costos de producción en banano, generando alto impacto por el uso de agroquímicos para su control. Como respuesta a esta situación y buscando nuevas alternativas de manejo, se planteó evaluar productos no convencionales con reportada acción antimicótica. Por tanto, se evaluó *invitro* el efecto del Ácido Acético y el Sulfato de Potasio en diferentes concentraciones, sobre el crecimiento y esporulación del hongo *Mycosphaerella fijiensis*. El hongo se aisló, purificó y multiplicó en el laboratorio de fitopatología de la Universidad del Magdalena, de muestras con la enfermedad colectadas en Guacamayal – Zona bananera, Magdalena, siguiendo la metodología de Viveros y Castaño Modificada. En diseño de bloques en arreglo factorial, se evaluaron nueve productos en diferentes concentraciones, tanto en forma individual (cuatro tratamientos), como en mezclas (cuatro tratamientos) y tres momentos de aplicación (simultáneamente con la siembra del hongo –M1, 48 horas después de la siembra del patógeno -M2, y 48 horas antes de la siembra del patógeno-M3), mediante técnica de enfrentamiento en caja Petri. Se cuantificó el crecimiento micelial (cm), el número de conidias viables (conidias/ ml) y el porcentaje de conidias viables. Los resultados mostraron que hubo diferencias altamente significativas para cada uno de los factores evaluados por separado y su interacción, superando al testigo absoluto en cada caso. Individualmente, el Ácido Acético al 10% aplicado en el momento dos tuvo un mejor comportamiento sobre el hongo, con un menor crecimiento micelial (0.833 cm), en el porcentaje de conidias viables (5.7%) y un número de conidias viables de (16.500 conidias/ml). Cuando se evaluó la mezcla de productos, se encontró que el Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l \*Momento 2, indujo menor número de conidias viables (350 conidias/ml), porcentaje de conidias viables (0 %) y el crecimiento micelial (0,77 cm). El Ácido Acético afectó el crecimiento micelial y viabilidad de las conidias de *Mycosphaerella fijiensis*, especialmente cuando se aplica 48 horas después de la siembra del patógeno; el Sulfato de Potasio no tuvo un efecto significativo en la inhibición del hongo.

**Palabras claves:** Musáceas, Ácido Acético, Potasio, Manejo de enfermedades, Control *in vitro*.

## ABSTRACT

Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* Morelet) represents 40 % of the banana production costs, generating high impact by the chemicals used to control it. As a response to this situation and looking new management alternatives, it was proposed to evaluate unconventional products with antifungal action. Therefore, the effect of acetic acid and potassium sulphate in different concentrations on the growth and sporulation of the fungus *Mycosphaerella fijiensis* was evaluated *invitro*. The fungus was isolated, purified and was reproduced in the laboratory of Phytopathology at the University of Magdalena, from samples collected in Guacamayal – Zona Bananera, Magdalena, following the modified methodology of Viveros and Castaño. In Block design in factorial arrangement, were evaluated nine different concentrations of products, individually (four treatments) and in mixtures (four treatments) and three application times (simultaneously with sowing the fungus-M1, 48 hours after planting of pathogen-M2, and 48 hours before planting pathogen-M3) using Petri showdown technique. Mycelial growth (cm), number of viable conidia (conidia / ml) and percentage of viable conidia were measured. The results showed highly significant differences for each of the factors evaluated separately and their interaction, exceeding the absolute control in each case. Individually, Acetic Acid 10% and time two showed the best behavior on the fungus, with reduced mycelial growth (0.833 cm), lower percentage of viable conidia (5.7%) and a number of viable conidia (16,500 conidia / ml). Respect to product mixture, it was found that 20% Acetic Acid + Potassium sulfate 53 g / l and application time two, induced fewer viable conidia (350 conidia / ml), percentage of viable conidia (0 %) and mycelial growth (0.77 cm). Acetic acid affected the mycelial growth and viability of conidia of *M. fijiensis*, especially when applied 48 hours after seeding of the pathogen. Potassium sulphate had no significant effect in inhibiting the fungus.

**Keywords:** Musacea, Acetic Acid, Potassium, Disease Management, *in vitro* control.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Sigatoka negra causada por el hongo (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) es la enfermedad que causa mayores costos de manejo en el cultivo de banano.

La enfermedad se ha constituido en el principal limitante fitosanitario para la agroindustria bananera de Colombia, llegando a causar una reducción del 56.8% en el peso del racimo cuando no se controla químicamente. Los costos de control varían entre 700 – 900 US\$/ha/año, representando cerca del 13.8% de los costos totales de producción del cultivo y el 46% de los costos de los agroquímicos (Belalcázar, 1991).

El control químico de la Sigatoka negra en Colombia, se basa en el desarrollo de la enfermedad a través del tiempo y las condiciones climáticas en cada zona; el programa de ciclos y aplicaciones para el control se encuentra ajustado a las normas establecidas por FRAC Fungicide Resistance Action Committee (2004). Para la zona del Magdalena, se utiliza un programa general de aplicaciones de fungicidas protectantes, en número de 4 durante el período de enero a abril, en promedio se realizan 8 ciclos de triazoles, 4 de estrobilurinas y 9 de morfolinas al año (Chica *et al.*, 2004).

En cuanto al número de ciclos necesarios para controlar la enfermedad en los últimos 10 años, para la zona del Magdalena, el incremento ha sido más constante, teniéndose 13.3 ciclos en el año 1993 y 24.2 ciclos para el año 2003 (Chica *et al.*, 2004).

A partir de pruebas y observaciones del Ingeniero Agrónomo Leonardo Bustamante, se evidenció la potencialidad de aplicaciones de Ácido Acético, Sulfato de Potasio y fitohormonas sobre una menor severidad de la enfermedad Sigatoka negra en cultivos de banano de exportación.

Con base en lo anterior, y la necesidad de buscar alternativas eficientes de manejo de la enfermedad, se decidió explorar productos no convencionales como el Ácido Acético y el Sulfato de Potasio, considerados de bajo impacto ambiental cuando se manejan adecuadamente.



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 MANEJO CONVENCIONAL DE LA SIGATOKA NEGRA

La Sigatoka negra causa destrucción paulatina del área foliar, acompañada de una fuerte necrosis, afectando el proceso fotosintético, haciendo que la planta llegue a la floración con un reducido número de hojas funcionales, perjudicando el eficiente llenado de frutos y acelerando el proceso de maduración de la fruta, lo que genera grandes pérdidas económicas en la fase de comercialización (Guzmán, 2006; Marín y Romero, 1998).

El impacto de la Sigatoka negra en los países productores ha sido devastador en los últimos 30 años; ocasionando importantes pérdidas en la producción. En Costa Rica, el costo de control para el cultivo de banano es de US\$1500 dólares por ha/año (Marín *et al.*, 2003).

El uso de fungicidas para la protección contra la enfermedad recibe una atención importante, porque en áreas con una adecuada pluviometría para la producción bananera de clones susceptibles las medidas no químicas no permiten alcanzar un control satisfactorio de la enfermedad. El manejo químico de la Sigatoka negra se ha llevado a cabo con el uso de fungicidas protectores y sistémicos en suspensión acuosa, en emulsiones de aceite y agua, o en mezcla directamente con aceite mineral solo, con activadores de mecanismos de resistencia del hospedante, y últimamente mediante el uso de compuestos relacionados con la nutrición, tanto de origen químico como naturales, con efecto sobre la fisiología de la planta y el desarrollo de la enfermedad (Pérez, 2006).

Sumado a lo anterior, la pérdida de sensibilidad de *M. fijiensis* a ciertas moléculas químicas, debido a su enorme plasticidad genética, dada por su doble tipo de reproducción vegetativa; y la urgencia de competir en el mercado nacional e internacional con productos de excelente calidad y con una menor cantidad de residuos tóxicos, crean la necesidad de encontrar métodos que permitan reducir los daños causados por esta enfermedad (Barrios, 2006).

## 2.2 MANEJO BIOLOGICO DE LA SIGATOKA NEGRA

En los últimos años, los inconvenientes causados por el uso de químicos en la agricultura se han incrementado, lo que ha generado un gran interés en la búsqueda de sistemas de control alternativos (Benítez *et al.*, 2004 – citado por Barrios, 2006). Una de las estrategias presentadas es la utilización de microorganismos que puedan actuar como agentes de biocontrol donde los mecanismos empleados por estos son muchos y de variada naturaleza (Howell, 2003).

Según, Rey *et al.*, (2001), la habilidad de un hongo para existir en un hábitat particular como el suelo o la superficie del órgano de una planta, está particularmente determinado por las relaciones ecológicas con otros microorganismos. Estas interrelaciones a menudo son antagonistas naturales, donde uno o más de los organismos puede resultar perjudicado o tener una actividad reducida. Especies como: micorrizas, rizobacterias y hongos endofíticos, son los más utilizados para el control biológico de enfermedades, debido a su ubicuidad, facilidad para ser aislados y subcultivados, así como, un rápido crecimiento en un gran número de sustratos (Pocasangre *et al.*, 2006; Sikora y Pocasangre, 2006; Rey *et al.*, 2001).

Los hongos endofíticos (HE), microorganismos que colonizan los tejidos u órganos internos de una planta sin causar ningún tipo de daño a la misma (Latch, 1993; Carroll, 1990), pueden alterar la fisiología promoviendo el crecimiento e incrementando la resistencia al estrés causado por factores bióticos o abióticos (Pocasangre *et al.*, 2006; Sikora y Pocasangre, 2006; Pocasangre, 2003; Sikora, 1992). Entre los géneros más conocidos se encuentran: *Acremonium*, *Anthostomella*, *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Clypeopycni*, *Colletotrichum*, *Coniothyrium*, *Cryptocline*, *Fusarium*, *Glomerella*, *Guignardia*, *Lasioidiploidia*, *Libertella*, *Nodilosporium*, *Phaeosphaeria*, *Phialophora*, *Phoma*, *Phomastospora*, *Phomopsisfiliciana*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Verticillium* y *Xylaria* (Souza *et al.*, 2004; Petrini *et al.*, 1992).

Los HE son también conocidos por el desarrollo de relaciones planta-microorganismo mutualista donde actúan como antagonistas contra plagas y enfermedades (Harman *et*

*al.*, 2004). El éxito de la mayoría de estos hongos se debe a su alta capacidad de reproducción, habilidad para sobrevivir bajo condiciones desfavorables, eficiencia en el uso de nutrientes, promoción de crecimiento e inducción de los mecanismos de defensa en las plantas (Sikora y Pocasangre, 2006; Benítez *et al.*, 2004).

## **2.3 MECANISMOS DE BIOCONTROL**

Según Howell (2003), los controladores biológicos son organismos vivos cuya actividad depende de las condiciones ambientales donde habitan y de los mecanismos complejos que actúan sinérgicamente para el control de enfermedades. Benítez *et al.*, (2004), afirma que cuando el agente de biocontrol es un HE, el mecanismo se da como resultado de su habilidad para producir sustancias o metabolitos que impidan la germinación de esporas, inhibiendo la acción del patógeno o modificando la rizosfera por acidificación del suelo, lo cual interfiere el crecimiento del patógeno agresor.

Asimismo, el biocontrol puede resultar de la interacción entre los patógenos y el controlador biológico, mediante un micoparasitismo que involucre un contacto físico y la producción de enzimas hidrolíticas, compuestos tóxicos y/o antibióticos que actúan sinérgicamente con las enzimas (Sharon *et al.*, 2001). En el caso de cepas no patogénicas de *Trichoderma* y *Fusarium*, éstas pueden además, ejercer efectos positivos incrementando el crecimiento de la planta (biofertilización), al mismo tiempo de estimular mecanismos de defensa (Harman, 2000).

## **2.4 MANEJO DE ENFERMEDADES A TRAVÉS DE EXTRACTOS VEGETALES**

Los extractos de plantas constan de una combinación de elementos activos producto del metabolismo vegetal. Todo el conjunto de sustancias del vegetal forman un *totum*; la gran cantidad de sustancias químicas que contiene interacciona de modo sinérgico, es decir, dan como resultado efectos superiores al efecto de los mismos elementos por separado. Las sustancias coadyuvantes, contenidas en menor proporción y sólo aparentemente superfluas, hacen posible el desarrollo óptimo de la sustancia principal o

principio activo, al fomentar su absorción y acelerar y reforzar de esta manera el efecto antimicótico (Morales, 1997).

Mejía (1992), llama la atención sobre plantas que segregan sustancias tóxicas por sus raíces y hojas e inhiben el crecimiento de microorganismos y de otras plantas, como es el caso del diente de león (*Taraxacum officinale* L.) y el ajeno.

La actividad alelopática se presenta en los vegetales gracias a que pueden biosintetizar metabolitos secundarios que, liberados al ambiente por volatilización o a través de lixiviados de hojas o extraídos por métodos físicos, son capaces de actuar como fungicidas, plaguicidas y hasta herbicidas, ejerciendo efectos nocivos o benéficos, que directa o indirectamente actúan sobre otro organismo (Sampietro, 2002).

## **2.5 MANEJO DE ENFERMEDADES A TRAVÉS DE INDUCCION DE RESISTENCIA**

La inducción de resistencia consiste en la estimulación, por parte de moléculas activadoras, de los mecanismos de defensa en el hospedante (Riveros, 2001). En ciertos casos, la inducción de resistencia inicia con una respuesta local por parte de la planta alrededor del punto de necrosis y es asociada con un incremento rápido de la síntesis de ácido salicílico (AS) y la posterior activación de un gran número de genes que codifica para la producción de proteínas (PR) relacionadas con la patogenicidad. Subsecuentemente, la resistencia se expresa sistemicamente y se desarrolla en todas las partes de la planta, fenómeno conocido como: Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) (Durrant and Dong, 2004).

En la actualidad, se han sugerido una serie de inductores sintéticos de resistencia que involucran el ácido salicílico (AS) como señal intermediaria que conduce a SAR inhibiendo la acción de la catalasa; convirtiendo el  $H_2O_2$  en  $H_2O$  y  $O_2$ . La inhibición resulta en una acumulación de especies reactivas de oxígeno que puede actuar como mensajeros secundarios para inducir la expresión de los genes responsables de SAR (Chen *et al.*, 1993).

La inducción de ciertas proteínas no es producto de la acumulación del  $H_2O_2$  sino del AS directamente; además, la actividad de la enzima no decrece con el tratamiento de AS (Hammerschmidt and Smith, 2000).

Diferentes inductores bióticos como proteínas, glicoproteínas, péptidos, quitina, glucano, polisacáridos y lípidos, han sido encontrados en fluidos de esporas en germinación, filtrados de cultivos de hongos y bacterias, paredes celulares o membranas de hongos fitopatógenos (Riveros, 2002; Darvill and Albersheim, 1984).

Dentro del género *Mycosphaerella* se ha reportado que la especie *M. pinodes*, la cual secreta un elicitor en su fluido de picnosporas en germinación, induce mecanismo de defensa en plantas mediante la producción de fitoalexinas, además de un incremento en la actividad de proteínas PR como  $\beta$ -1,3-glucanasa y endoquitinasa (Barrios, 2006).

### 3. MARCO TEÓRICO

La Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) fue observada por primera vez en Fiji en 1963 y desde entonces se ha constituido en la principal limitante para la producción de bananos y plátanos en la mayoría de países del mundo donde estas plantas son cultivadas (Stover, 1972; Marín y Romero, 1992; Carlier *et al.*, 2000; Rhodes, 1964 y Meredith, 1970 – Citados por Guzmán, 2002).

Puede causar una disminución en el peso de los racimos de hasta un 40 % (Marín *et al.*, 1992, Guzmán y Romero, 1997, Carlier *et al.*, 2000) y provocar hasta un 100% de pérdidas debido al deterioro en la calidad del producto.

Los frutos pueden madurar prematuramente, siendo este un serio inconveniente para el manejo poscosecha con fines de exportación (Marín y Romero, 1992).

#### 3.1 GENERALIDADES DE LA SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet)

La Sigatoka negra en plátano y banano es causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, el cual se propaga a través de conidias y ascosporas. La fase conidial o estado imperfecto del hongo es conocido con el nombre de *Paracercospora fijiensis*, cuya formación de conidióforos comienza en la hoja desde el estado de estría hasta el de mancha, y se presenta en mayor cantidad sobre el envés de las hojas afectadas. Con el desarrollo de la lesión, las cavidades estomáticas colonizadas por el hongo son rápidamente utilizadas para la fecundación de hifas mediante espermacios compatibles que dan origen a peritecios, que son estructuras fructíferas sexuales que contienen ascas con ocho ascosporas, las cuales aparecen cuando el tejido se necrosa y adquiere una coloración café claro a gris (Merchán, 2000- Citado por Barrios, 2006).

La diseminación de la enfermedad a grandes distancias se debe a que las ascosporas son diseminadas por el viento, mientras que las conidias son los medios más importantes de

propagación local, ya que su liberación es principalmente efectuada por el agua en forma de lluvia o rocío (Belalcázar, 1998).

## **3.2 PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS ALTERNATIVOS EVALUADOS**

### **ÁCIDO ACÉTICO ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )**

El Ácido Acético,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , pertenece al grupo de los ácidos carboxílicos, también es conocido con el nombre de Ácido etanoico, se presenta hasta en 5% en el vinagre. Así mismo el Ácido Acético proviene de la oxidación catalizada por una enzima del etanol en el vino, la cerveza y la Cidra. Este Ácido se emplea comúnmente como disolvente en la preparación de muchos esteres, los cuales son importantes disolventes (Wingrovey, 1984).

El Ácido Acético es un intermediario metabólico universal y se produce en las plantas y animales (Busta y Foegeding, 1983). Fue utilizado comúnmente por los fabricantes de alimentos como conservante antimicrobiano o acidulante en una variedad de productos alimenticios (Davidson y Juneja, 1990). Los vapores de Ácido Acético son extremadamente eficaces para matar las esporas de hongos postcosecha que causan necrosis a varias frutas (Sholberg *et al.*, 1998; Abd-Alla, 2005).

La fumigación con Ácido Acético puede prevenir la descomposición postcosecha de manzanas, uvas, kiwis, pera, tomate, cítricos y frutas de hueso (Sholberg y Gaunce 1995; Sholberg y Gaunce, 1996; Sholberg *et al.*, 1998; Abd-Alla, 2005).

Se usan productos derivados del Ácido Acético en las industrias de los textiles, de pinturas, y de material fotográfico. En sus propiedades físicas, el punto de fusión es de 17 grados centígrados y el punto de ebullición es de 118 grados centígrados (Wingrove, y Caret, 1984).

El Ácido Acético se considera que es un compuesto "generalmente reconocido como seguro" (GRAS) y es comparable a otros compuestos GRAS tales como peróxido de

hidrógeno, bicarbonato y sales de carbonato, cloro y análogos de azúcares debido a que dejan residuos bajos o no detectables, degrada rápidamente y metabolizan rápidamente en el tejido vegetal (Barkai, 2001-Citado por Sholberg, 2001).

El Ácido Peracético es un eficaz desinfectante que consiste en una combinación de peróxido de hidrógeno y Ácido Acético. Este actúa de una manera similar a la de los clorógenos, es decir, con un amplio poder oxidante, pero, a diferencia de los primeros, su acción es mucho menos corrosiva, posee un mayor espectro de acción y es efectivo en presencia de materia orgánica y de aguas duras (Kyanco *et al.*, 2010).

Así mismo, el Ácido Peracético no afecta al medio ambiente y se descompone en poco tiempo dejando como residuo agua, oxígeno y Ácido Acético. Además, por requerir bajas concentraciones su costo es moderado. Debido a su capacidad antimicrobiana y a que sus productos de descomposición son totalmente biocompatibles porque no deja residuos tóxicos, la FDA (Food and Drug Administration) ha aprobado el uso del ácido peracético para la desinfección directa de frutas y hortalizas (FDA, 2001-Citado por Kyanco *et al.*, 2010)

### **SULFATO DE POTASIO ( $K_2SO_4$ )**

Según Molina (2008), es una muy buena fuente de Potasio con una concentración del 50% de  $K_2O$  y un alto porcentaje de Azufre. Este fertilizante no acidula el suelo, pero si trabaja muy bien donde los niveles de Sodio son moderados a medios, para un cultivo. Las altas respuestas de producción en llenado de futo, pueden ser posiblemente afectadas favorablemente porque el azufre introduce el  $K_2SO_4$ .

### **POTASIO (K)**

El Potasio es llamado también potasa, es un nutriente clave de la planta. Las plantas consumen más Potasio que cualquier otro nutriente, exceptuando el nitrógeno. Los compuestos no orgánicos de una planta contienen Potasio, pero muchos procesos biológicos los necesitan (Plaster, 2004).



El Potasio se disuelve en los fluidos de la planta, cubriendo diversas funciones reguladoras. El Potasio activa las necesidades de enzimas en la formación de proteínas, almidón, celulosa y lignina. Por consiguiente es necesario para el desarrollo de fuerte paredes gruesas de células y tallos de planta rígidos (Plaster, 2004).

El vigor del hospedante mediante una nutrición adecuada es una práctica común de manejo preventivo de enfermedades y se hace con el fin de que las plantas sean menos susceptibles a los patógenos. Algunos elementos nutricionales como: nitrógeno, Potasio, calcio, boro, silicio y la relación N: K son importantes en el aumento de resistencia a parásitos obligados como *P. sparsa* (Ivancovich, 1996; Krauss, 2001).

Según literatura, se ha descrito al fosfonato (sales de Potasio) como inductores de resistencia en varios patosistemas, por ejemplo, en los patosistemas maíz/*Puccinia sorghi* Schwein (Reuveni *et al.*, 1994), maíz/*Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Sugss., pepino/*Sphaerotheca fuliginea* (Schltldl.) Polacci (Reuveni *et al.*, 1993), pimentón/*Leveillula taurica* (Lev.) Arnaud (Reuveni *et al.*, 1998) y coliflor/*Peronospora parasítica* (Pers. ex Fr.) Fr. (Becot *et al.*, 2000- Citados por López y Castaño, 2011).

Eshraghi *et al.*, (2011) documentaron que plantas de arabidopsis [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh] tratadas con fosfito de Potasio e infectadas con *Phytophthora cinnamomi* Rands, mostraron más tempranamente la inducción de respuestas de defensa a diferencia de las plantas no tratadas, las respuestas generadas incluyeron la transcripción de genes de defensa, lignificación de la pared celular y producción de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Ahora bien, para el caso de *Mycosphaerella fijiensis*, Mogollón y Castaño (2011), demostraron que el efecto de inductores de resistencia sobre los valores bajos de índice severidad (%), grado de evolución de los síntomas y tasa de desarrollo (r) de las sigatokas amarilla y negra en plántulas de Dominico-Hartón, fue producto de la activación de los mecanismos de defensa de las plantas, en donde se demostró que el fertilizante Fosfito de Potasio, fue el mejor inductor, sin presentar diferencias significativa con respecto a propiconazol.

## AZUFRE (S)

El azufre es uno de los elementos más abundantes sobre la Tierra y es un elemento esencial para los seres vivos. El azufre pertenece al grupo VIA del sistema periódico en donde se encuentra junto con el oxígeno, el selenio, el telurio y el polonio; en forma natural el azufre es una mezcla de los cuatro isótopos  $^{32}\text{S}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{34}\text{S}$  y  $^{35}\text{S}$ . La abundancia natural de cada uno de ellos es de 95.1%, 0.74%, 4.2% y 0.016%, respectivamente (Huxtable, 1986; Wainwright, 1984- Citados por Benavides, 1998). El azufre se encuentra en estados de oxidación que van desde +6 hasta -2, siendo el estado más oxidado ( $\text{SO}_4^-$ ) el generalmente utilizado por las plantas como fuente de azufre del suelo (Benavides, 1998).

A pesar de ser requerido por las plantas en cantidades parecidas a las del fósforo Tisdale, (1990)- Citado por Benavides (1998) no se le considera un macroelemento; a pesar de ser tan importante como el nitrógeno en la determinación de la cantidad y calidad de la biomasa de un cultivo (Rending *et al.*, 1976; Reuveny *et al.*, 1980; Rennenberg, 1984- Citados por Benavides, 1998) se le clasifica aún en muchos textos como "elemento secundario".

Según Porcuna (2010), el azufre se conocía como preventivo de diferentes enfermedades y se empleaba para combatir insectos antes del año 1.000 A.C. Su uso como fumigante ya fue mencionado por Homero. La acción del azufre como fungicida fue explicada por Marés en 1885 que supuso que era tóxico y que actuaba por simple contacto; luego se sostuvo que afectaba bajo la forma de sus vapores. En la segunda mitad del siglo pasado se observaron excelentes resultados en el control de oídio de la vid con azufre en polvo. El azufre actúa por contacto quemando el micelio del hongo. También es eficaz para el control de los ácaros y actúa como un potente repelente mientras la planta está cubierta por azufre.

Se usa como anticriptogámico, especialmente en los hongos externos (oídios y otros ascomicetos) en acción curativa ya que es capaz de frenar una infección ya declarada al menos en una de las fases del ciclo biológico del hongo (Porcuna, 2010).

## **4. JUSTIFICACIÓN**

El principal limitante de la producción bananera es la enfermedad conocida como Sigatoka negra. Cada año aumentan los ciclos de aspersión, totalizándose en promedio 32 en el año 2008 y 30 en el año 2009.

La enfermedad puede reducir entre el 25 y el 90% los rendimientos (Fouré, 1985; Stover, 1983). Ocasiona pérdidas entre el 30 y 40%. Su manejo basado en agroquímicos, representa el 40% de los costos de producción (Mogollón y Castaño, 2012).

El impacto económico de la enfermedad sumado a altibajos cambiarios y estabilidad en el precio de la fruta para el productor, ha conllevado al desplazamiento de pequeños cultivadores hacia otros cultivos o al abandono de la actividad agrícola.

El impacto ambiental de la enfermedad es algo aun no cuantificado en la zona productora del Magdalena, pero, las altas cargas de fungicidas y portadores vertidas al ambiente permiten inferir que fuentes de agua, productos de consumo directo (frutas, granos) y las personas están expuestas a contaminación o irritación por estos productos.

A pesar de las aspersiones periódicas de fungicidas, la enfermedad sigue siendo limitante, por cuanto los costos son crecientes y los efectos sobre rendimientos y calidad aún son significativos.

Es así como se planificó la formulación y realización de un proyecto en busca de alternativas eficientes de manejo de la enfermedad, pero al mismo tiempo menos costosas y menos perjudicial para la sostenibilidad de los recursos naturales.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 GENERAL**

Evaluar el efecto de productos no convencionales de forma *in vitro*, aplicados de manera individual y en mezclas sobre el agente causal de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), en las musáceas.

### **5.2 ESPECÍFICOS**

- ✓ Determinar el efecto del Ácido Acético y el Sulfato de Potasio en aplicaciones individuales, sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet.
- ✓ Conocer el efecto de las mezclas de Ácido Acético y Sulfato de Potasio sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

El aislamiento y la purificación de *Mycosphaerella fijiensis*, (Figura 1) se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena.

Previamente se recolectó el tejido foliar en plantas de banano de la Finca Macondo ubicada en la zona de Sevilla - Guacamayal en el municipio Zona Bananera, en el Magdalena, donde la enfermedad ha presentado históricamente la mayor severidad.

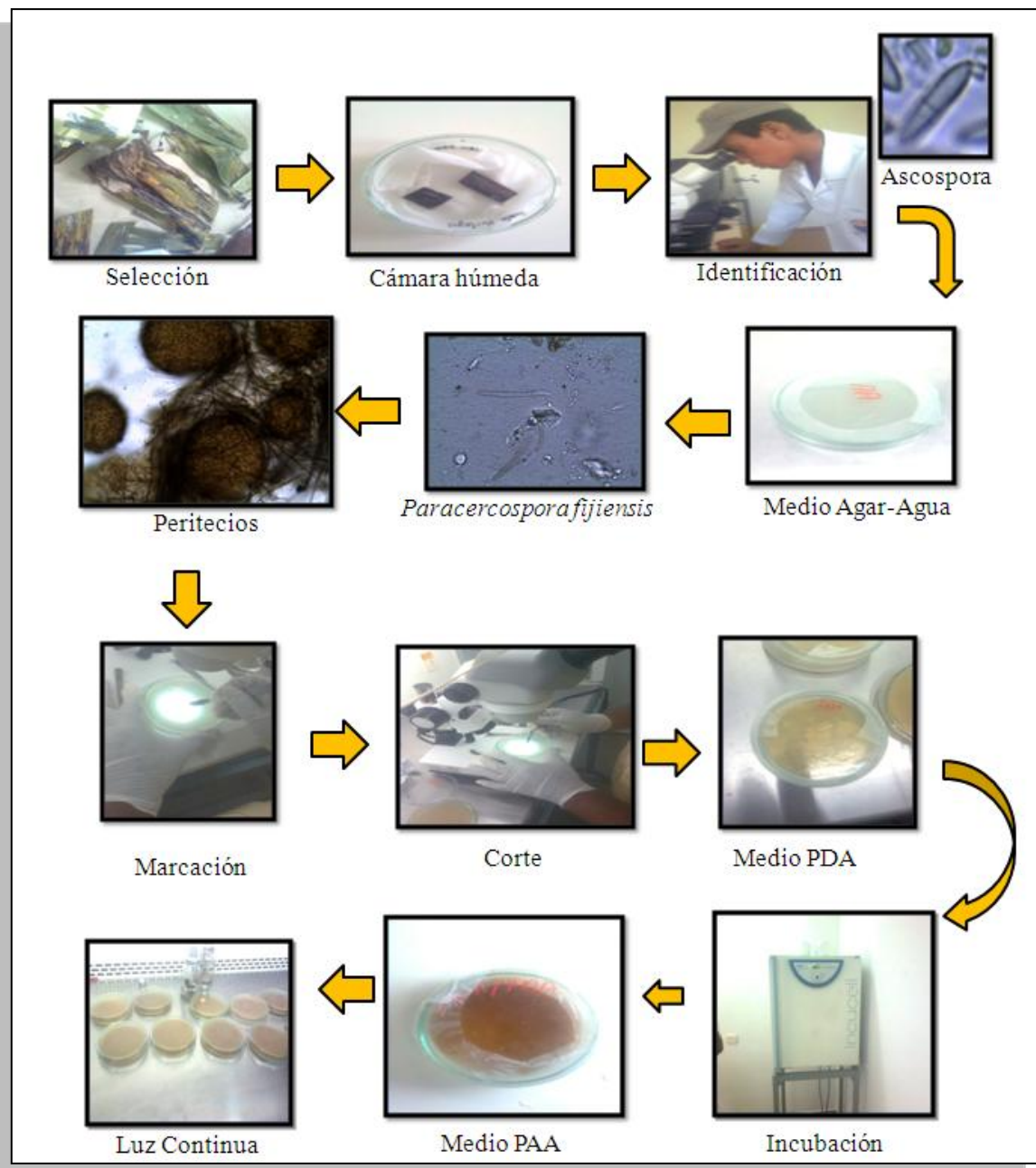
Se colectaron hojas o secciones de hojas que presentaban lesiones desde el estado 4 al 6 de la enfermedad (Escala de severidad del daño, según Stover), con el fin de asegurar la presencia de estructuras reproductivas viables del hongo *Mycosphaerella fijiensis*; los tejidos infectados de apariencia blanco-grisáceo producen el mayor número de ascosporas (Stover, 1969; Du Pont, 1982- Citados por Viveros y Castaño, 2006).

El muestreo se llevó a cabo en horas de la tarde, preferencialmente después de dos o tres días sin lluvias para asegurar la presencia de inóculo en el tejido foliar.

Las muestras se guardaron en bolsas de papel craft (envolver); luego en papel aluminio, y se introdujeron en bolsas plásticas. Las muestras se depositaron en una nevera de icopor la cual contenía hielo seco.

Para la obtención de conidias de *Mycosphaerella fijiensis*, se utilizó la metodología utilizada por Viveros y Castaño (2006), con algunas modificaciones.

Del tejido colectado en campo, se seleccionaron cinco (5) grupos de tejidos de 100 g cada uno correspondiente a tejidos con lesiones en el estado con mayor evidencia de estructuras reproductivas de *M. fijiensis*, previa revisión a nivel microscópico (montaje de improntas, raspados o cortes histológicos).



**Figura 1. Fase de aislamiento y purificación de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Universidad del Magdalena. 2013.**

El tejido foliar infectado por *M. fijiensis* se incubó a temperatura ambiente (aproximadamente 18°C), en cámara húmeda y en bolsas de plástico transparente durante 48 horas; posteriormente, con la ayuda de un estereoscopio, se marcaron áreas de aproximadamente 2 cm<sup>2</sup> que presentan buenas poblaciones de peritecios, dentro de los cuales se hallan las ascosporas, siguiendo la metodología de Mateus *et al.*, 1987- Citados por Viveros y Castaño (2006) (Figura 2).

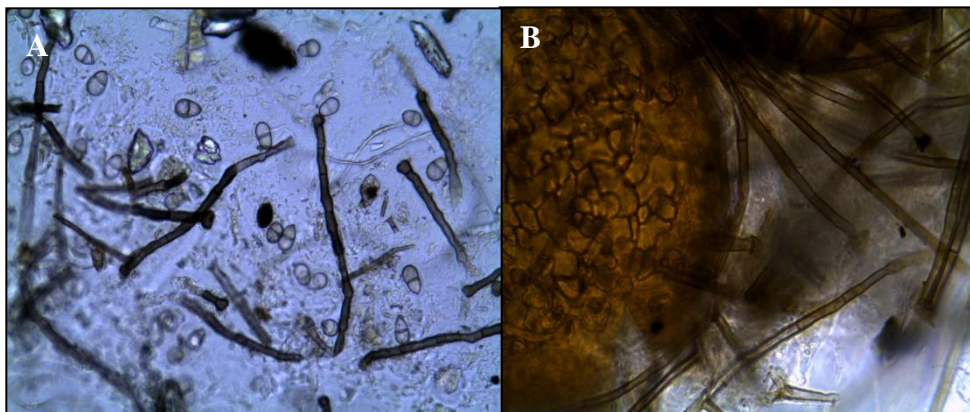
Cinco de estas áreas se pegaron con grapas a círculos de papel filtro de 9 cm de diámetro y se sumergen en agua corriente por 5 minutos para colocarlas después en las tapas de 10 cajas Petri, con el fin de permitir la descarga de ascosporas sobre una solución de agar-agua al 20%.

Al cabo de dos horas se retiraron las tapas de las cajas, se observó en un microscopio compuesto, con el aumento en 4x para identificar las zonas de descarga. A 10X y 40X se identificaron las ascosporas, las cuales son bicelulares, hialinas, elípticas y con una longitud aproximada de 14-19 μ y un diámetro de 4-6 μ, siguiendo la metodología propuesta por Du Pont (1982) Citado por Viveros y Castaño (2006).

Posteriormente con la ayuda de un estereoscopio, se marcó sobre el medio agar-agua el lugar en donde se hallaban las ascosporas individuales. Cada una de las huellas hechas con un bisturí, se separaron y transfirieron con la ayuda de una aguja de disección a una caja de Petri, para un total de 10 cajas con medio PDA (Papa Dextrosa Agar, 39g/ 1-1 de agua).

Los 10 cultivos monospóricos se incubaron en completa oscuridad a 25°C en una incubadora marca (INCUCCELL), durante 20 días para obtener micelio.

Una vez obtenido el micelio, se retiró del medio con un bisturí una fracción del hongo y se transfirió al medio Plátano Avena Agar (PAA). Este medio se preparó tomando 60 g de hojas jóvenes de banano del genotipo de donde se colectaron las muestras, las cuales se lavaron con agua corriente, se picaron, se licuaron durante 3 minutos en 500 ml de agua destilada estéril, y se agitó a 2.800 rpm durante 3 minutos; el licuado se filtró a través de dos capas de gasa. Por otro lado, se mezclaron 20 g de harina de avena en 500 ml de agua destilada estéril y se llevó a cocción por 10 minutos y luego se filtró también a través de dos capas de gasa. Posteriormente, se mezclaron las dos soluciones en



**Figura 2. A- Ascosporas y B- Peritecios de *Mycosphaerella fijiensis*. Foto tomada a 40x. Universidad del Magdalena. 2013.**

relación volumétrica 1:1, se adicionó agar-agar al 1.5% y se esterilizó en autoclave a 121°C durante 20 minutos (Smith, 1971- Citado por Viveros y Castaño, 2006).

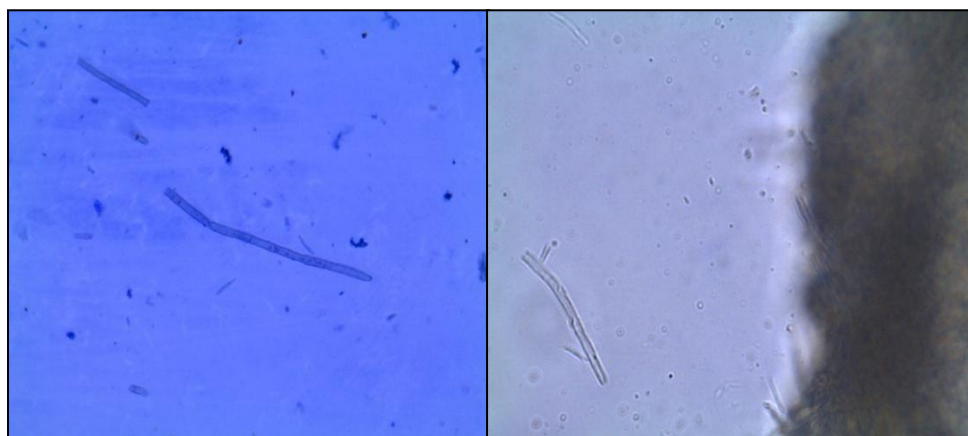
Las siembras de la suspensión de micelio en medio PAA se colocaron a 25°C en un estante metálico previamente desinfestado, durante 15 días, y se expuso a luz blanca continua para la producción de conidias (Figura 3). El estante estaba provisto de una lámpara de 20 watts ubicada a 15 cm de la superficie donde se ubicaron las cajas (Jacome y Schuh, 1993; Mourichon *et al.*, 1987; Romero y Sutton, 1997- Citados por Viveros y Castaño, 2006).

Para la identificación de *Paracercospora fijiensis* (estado asexual de *Mycosphaerella fijiensis*) (Figura 4), se tomaron conidias del cultivo puro con una aguja de disección estéril y sobre un portaobjetos se montó la muestra con lactofenol (fenol 20 g, ácido láctico 20 ml, glicerol 30 ml y agua destilada 20 ml) siguiendo lo planteado por Castaño y Zapata (1998), observándose entonces a través de un microscopio compuesto en el objetivo 40X la presencia de la cicatriz (hilio) en el punto de unión de la conidia con el conidióforo, característico de *P. fijiensis* tal como lo describen Mateus *et al.*( 1987); Jones y Mourichon (1993); Mourichon *et al.*(1987); Aguirre *et al.*(1998)- Citados por Viveros y Castaño (2006).





**Figura 3.** Siembra en suspensión del micelio de *Mycosphaerella fijiensis* en medio PAA. Universidad del Magdalena. 2013.



**Figura 4.** Identificación de *Paracercospora fijiensis*. Foto tomada a 40x. Universidad del Magdalena. 2013.

## **6.2 PRODUCTOS EVALUADOS**

Los productos evaluados se prepararon por separados, utilizando vidriería limpia y estéril.

El Ácido Acético se preparó en tres concentraciones: al 0%, 10% y 20% suspendido en agua destilada estéril. Se utilizó Ácido Acético de uso en laboratorio al 100%.

El Sulfato de Potasio se preparó en dosis de 0, 26 y 53 g/l de agua destilada estéril. Fue utilizado fertilizante comercial al 50%.

Cada producto se preparó en un volumen de 500 ml por sesión, no dejando sobrantes para la siguiente sesión. Esta labor se realizó en la cámara de flujo laminar con el fin de evitar contaminaciones en la manipulación.

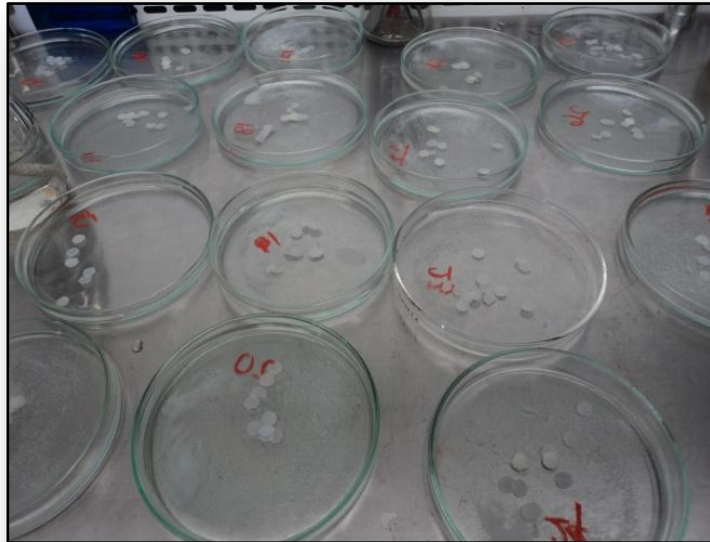
En total, se evaluaron ocho productos, en forma individual y en mezclas con dos concentraciones, y un testigo absoluto (Tabla 1).

**Tabla 1. Descripción de los productos evaluados por su efecto sobre *Mycosphaerella fijiensis*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Producto	Ácido Acético (%)	Sulfato de Potasio (g/l)
1	0	0
2	10	0
3	20	0
4	0	26
5	0	53
6	10	26
7	10	53
8	20	26
9	20	53

### 6.3 EVALUACIÓN *in vitro*

Para la aplicación de los tratamientos, cada producto se colocó en cajas Petri estériles en un volumen de 20 ml. Para los tratamientos que incluyeron las mezclas o combinaciones, se depositaba inicialmente 20 ml de uno de ellos y seguidamente los 20 ml del segundo producto; luego se agitaba suavemente en círculos para homogenizar la mezcla (Figura 5).



**Figura 5. Preparación de los discos con los productos evaluados tanto individuales como en mezclas. Universidad del Magdalena. 2013.**

Posteriormente, se tomaron discos de papel filtro de un cm de diámetro, cortados con una perforadora manual de papel, previamente esterilizados en autoclave por 15 minutos y a 121 lbs de presión, y se sumergieron en la solución contenida en las cajas Petri, por 30 minutos, buscando que el producto o mezcla de productos se fijara al disco (Figura 6).



**Figura 6. Discos con el producto o mezcla de productos, en una caja petri. Universidad del Magdalena. 2013.**

La actividad de los productos fue evaluada en tres momentos de aplicación; ellos fueron:

**Momento uno:** se sembró el hongo puro en el medio PAA y al mismo tiempo se colocaron discos impregnados con los productos.

**Momento dos:** se sembró el hongo, y a las 48 horas se hizo la deposición de los discos con los productos.

**Momento tres:** Se colocaron los discos de papel impregnados con los productos y a las 48 horas se sembró el hongo.

Para las pruebas de enfrentamiento, se empleó el método del disco en placa, usado comúnmente para determinar la susceptibilidad de microorganismos a agentes quimio-terapéuticos siguiendo lo establecido por Stauffer *et al.* (2000) Citado por Viveros y Castaño (2006). Este método consiste en poner los discos de papel filtro de un cm de diámetro, previamente esterilizados, impregnados con los productos y mezclas a evaluar, sobre la superficie de un costado de la caja petri con el medio de cultivo tal como lo describen Bauer *et al.* (1966); Franklin (1975) Citados por Viveros y Castaño (2006) (Figura 7).

La siembra del hongo se realizó mediante la deposición de suspensión conidial en una franja de 5 cm hacia un costado de la caja petri con medio PAA. Con la ayuda de una asa estéril se tomó la suspensión y se colocó sobre el medio de cultivo. Los medios inoculados se dejaron en reposo por una hora para favorecer la deposición del hongo sobre el sustrato y permitir la evaporación del exceso de agua. Los discos con los productos se colocaron a tres cm del sitio de siembra del hongo, depositando dos discos por caja en la misma línea pero a una distancia de dos cm entre ellos.



**Figuras 7. Crecimiento *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis* en medio PAA y con discos de productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

Las cajas con los tratamientos se colocaron en un estante metálico, previamente desinfectado, en un cuarto de crecimiento que se mantuvo con luz blanca todo el tiempo y a temperatura oscilante entre 24 y 28° centígrados.

Para los momentos uno y tres, las lecturas se realizaron a partir de las 48 horas de la siembra del hongo; mientras que en el momento dos se inició las observaciones 48 horas después de colocados los discos con los productos, y donde fue evidente el inicio del crecimiento fungosos sobre el medio.

Las variables evaluadas fueron: crecimiento micelial, concentración de conidias/ml y conidias viables (%).

Cada dos días hasta llegar al día 15, se midió el crecimiento micelial de *Mycosphaerella fijiensis*, utilizando una regla plástica; para ello, se medía el diámetro cubierto desde el punto de siembra hasta el borde de la zona de avance del hongo sobre el medio.

A los 15 días, se evaluó el número de conidias de cada tratamiento y bloque. Para ello, de una de las cajas tomadas al azar, se recolectó el crecimiento fungoso presente en el medio y se depositó en un tubo de ensayo estéril que contenía 10 ml de agua destilada estéril. Se agitó fuertemente para facilitar la separación de las conidias y se filtró con una gasa médica estéril, pasándolo a un nuevo tubo de ensayo. De cada tubo se colocaron muestras en la cámara de Neubauer, donde se hicieron dos conteos sobre los cuadrantes cuadrículados centrales. Los valores se promediaron, y el resultado se convirtió a Concentración de conidias/ml de suspensión.

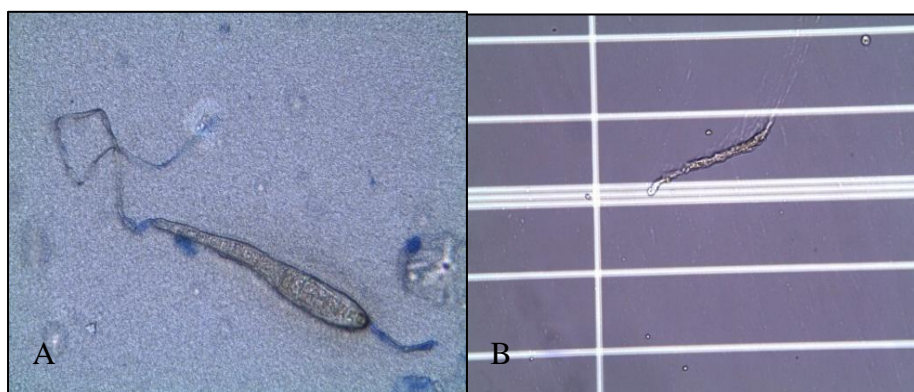
Para obtener el valor del Número de conidias/ml se utilizó la fórmula:

**Concentración de conidias (Número/ml)= No. de conidias X Inverso de la concentración/0,0002, donde:**

No. de conidias= cantidad de conidias contadas en los cuadrantes cuadrículados,

Inverso de la concentración= inverso de la concentración tomada para hacer el conteo.

Se evaluó igualmente el porcentaje de conidias viables. Para ello al momento del conteo de conidias (a los 15 días), se separaron las que presentaban deformaciones o alteraciones morfoanatómicas de las normales (germinadas o no) (Figura 8) y a través de regla de tres se calculó el porcentaje de las viables o normales.



**Figura 8. A- Conidia viable o normal, foto tomada a 100x y B- Conidia deforme de *Paracercospora fijiensis*. Foto tomada a 40x. Universidad del Magdalena. 2013.**

## 6.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño estadístico de bloques al azar con arreglo factorial, donde los factores fueron los productos y momentos de aplicación, respectivamente. Se realizaron dos ensayos por separado; en el primero se evaluaron los productos de manera individual en dos concentraciones (Tabla 2), y en el segundo la combinación de los productos en dos concentraciones (Tabla 3).

Las unidades experimentales estuvieron constituidas por tres platos Petri, y cada tratamiento se replicó tres veces.

El testigo absoluto correspondió al hongo enfrentado en los tres momentos a discos impregnados con agua destilada estéril.

Los datos fueron analizados estadísticamente con el paquete SPSS, realizando análisis de varianza y pruebas de comparación de promedios de Tukey; previamente se verificaron los supuestos de normalidad de datos mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnovy homogeneidad de varianza de Levene.



**Tabla 2. Descripción de los factores evaluados para medir la actividad individual de productos alternativos frente a *Mycosphaerella fijiensis*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Productos	Momentos de aplicación
	1: Al mismo tiempo, patógeno y producto
10% Ácido Acético	
20% Ácido Acético	2: Primero el patógeno y después de 48 horas, el producto
26 g/l KSO <sub>4</sub>	
53 g/l KSO <sub>4</sub>	
Testigo	3: Primero el producto y después de 48 horas el patógeno

**Tabla 3. Descripción de los factores evaluados para medir la actividad de productos alternativos combinados, frente a *Mycosphaerella fijiensis*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Productos	Momentos de aplicación
	1: Al mismo tiempo, patógeno y productos
10% Ácido Acético +26 g/l KSO <sub>4</sub>	
10% Ácido Acético +53 g/l KSO <sub>4</sub>	2: Primero el patógeno y después de 48 horas, los productos
20% Ácido Acético +26 g/l KSO <sub>4</sub>	
20% Ácido Acético +53 g/l KSO <sub>4</sub>	
Testigo	3: Primero los productos y después de 48 horas el patógeno

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 EFECTO DE PRODUCTOS INDIVIDUALES

Con el objeto de determinar el efecto individual de los productos y las concentraciones utilizadas, se realizó el análisis de varianza y pruebas de comparaciones según Tukey de las variables en estudio.

#### 7.1.1 Crecimiento micelial de *Mycosphaerella fijiensis*

Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas para la interacción de los factores y los productos y altamente significativas para el momento de aplicación (Tabla 4).

Quiere decir que el crecimiento del hongo estuvo más influenciado por la aplicación oportuna de los productos evaluados, tal como lo indicó la prueba de Tukey para este factor (Tabla 5); se encontró que con la aplicación de los productos 48 horas después de la inoculación del hongo hubo un menor crecimiento micelial con 2,07 cm, comparado con los 3,5 y 3,9 cm al aplicarse 48 horas previo a la siembra del hongo y simultáneamente con la siembra del microorganismo, respectivamente.

No obstante, podría entenderse también que independiente del momento de aplicación hay productos que superaron a otros, tal como se observó en la prueba de Tukey de este factor (Tabla 6). Se evidenció que la aplicación de Ácido Acético al 10% superó a los demás tratamientos, al permitir un crecimiento micelial promedio de 2,8 cm. El Sulfato de Potasio a menor concentración no fue estadísticamente diferente al testigo, y en su alta concentración fue inferior estadísticamente al Ácido Acético al 20%.

Para comprender con mayor claridad el efecto de la interacción, se realizó un análisis de varianza de la combinación de factores, aplicando el procedimiento de ANOVA de una vía. Este análisis indicó diferencias altamente significativa entre los tratamientos (combinación de productos y momentos) (Tabla 7).

**Tabla 4. Análisis de Varianza para Crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro* con productos individuales y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Productos	4,648	4	1,162	1,472	,023	,400
Momentos	27,294	2	13,647	17,289	,000	,999
Productos *	18,708	8	2,339	2,963	,014	,890
Momentos						
Error	23,680	30	,789			
Total	518,640	45				
Total corregida	74,330	44				

R cuadrado = ,681 (R cuadrado corregida = ,533)

a. Calculado con alfa = ,05

Contraste de Levene: F=1,587 (Sig=0,141)

Shapiro-Wilk: Estadístico=0,984 (Sig=0,782)

Kolmogorov-Smirnov: Estadístico=0,059 (Sig=0,200)

**Tabla 5. Valores promedios del crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*, bajo diferentes momentos de aplicación de productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

<b>Momentos</b>	<b>Valores promedios</b>
Momento 2	2,073 A
Momento 3	3,447 B
Momento 1	3,907 B

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 6. Valores promedios del crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis*, antediferentes productos, evaluados a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

<b>Productos</b>	<b>Valores Promedios</b>
Ácido Acético 10%	2,756 A
Ácido Acético 20%	2,922 AB
Sulfato de Potasio 53 g/l	3,000 B
Sulfato de Potasio 26 g/l	3,422 C
Testigo absoluto	3,611 C

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 7. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados por su efecto sobre el crecimiento micelial de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Intersección	Hipótesis	444,310	1	444,310	640,627	,002	1,000
	Error	1,387	2	,694			
Tratamientos	Hipótesis	50,650	14	3,618	4,544	,000	,998
	Error	22,293	28	,796			
Bloque	Hipótesis	1,387	2	,694	,871	,430	,185
	Error	22,293	28	,796			

R cuadrado = ,881 (R cuadrado corregida = ,733)

a. Calculado con alfa = ,05

Al analizar la prueba de Tukey, se encontró que la aplicación de Ácido Acético al 10% a las 48 horas después de la siembra del hongo permitió el menor crecimiento micelial del mismo con 0,8 cm en promedio; este tratamiento fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos (Tabla 8). En ese mismo orden, se encontró que el Sulfato de Potasio en sus dos concentraciones establecido 48 horas después de sembrado el hongo y el Ácido Acético en las dos concentraciones aplicados 48 horas antes de la siembra del hongo no mostraron diferencias estadísticas entre sí, pero si superaron al testigo absoluto en todos los momentos de aplicación y a los productos aplicados simultáneamente con la siembra del hongo (Tabla 8).

**Tabla 8. Valores promedios de crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo diferentes tratamientos y momentos *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Tratamientos	Valores promedios
Ácido Acético 10% + momento 2	0,833 A
Ácido Acético 20% + momento 2	2,000 B
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 2	2,000 B
Ácido Acético 20% + momento 3	2,100 B
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 2	2,400 B
Ácido Acético 10% + Momento 3	3,100 BC
Testigo absoluto + Momento 2	3,133 BC
Testigo absoluto + Momento 1	3,233 BC
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 3	3,433 BC
Ácido Acético 10% + Momento 1	3,567 C
Ácido Acético 20% + Momento 1	3,767 C
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 3	3,867 CD
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 1	4,433 D
Testigo absoluto + Momento 3	4,600 D
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 1	4,667 D

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).



### **7.1.2 Concentración de conidias de *Mycosphaerella fijiensis***

Los análisis estadísticos indicaron diferencias altamente significativas para la interacción de los factores y para cada uno de los factores por separado (Tabla 9).

Al analizar por separados los factores, se encontró que el Ácido Acético al 20% fue el producto que indujo la menor producción de conidias con un promedio de 211.000 conidias/ml, no presentando diferencias estadísticas con el Ácido Acético al 10% quien indujo una producción de 255.500 Conidias/ml (Tabla 10). El Sulfato de Potasio en concentración de 26 g/l no fue diferente estadísticamente al testigo, mientras que con 53 g/l se logró una reducción en el número de conidias con respecto al testigo (Tabla 10).

En cuanto a los momentos de aplicación, independiente de los productos adicionados, se logró un menor número de estructuras reproductivas cuando los productos son colocados 48 horas después de la siembra del hongo en el medio de cultivo (Tabla 11).

**Tabla 9. Análisis de Varianza para la concentración de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro* con productos individuales y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Productos	38,578	4	9,644	16,692	,000	1,000
Momentos	16,844	2	8,422	14,577	,000	,998
Productos *	15,822	8	1,978	3,423	,007	,935
Momentos						
Error	17,333	30	,578			
Total	1511,000	45				
Total corregida	88,578	44				

R cuadrado = ,804 (R cuadrado corregida = ,713)

a. Calculado con alfa = ,05

Contraste de Levene: F=0,618 (Sig=0,829)

Shapiro-Wilk: Estadístico=0,923 (Sig=0,085)

Kolmogorov-Smirnov: Estadístico=0,147 (Sig=0,160)

**Tabla 10. Valores promedios de la concentración de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis*, antediferentes productos, evaluados a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Productos	Valores promedios
Ácido Acético 20%	211.000 A
Ácido Acético 10%	255.500 AB
Sulfato de Potasio 53 g/l	289.000B
Sulfato de Potasio 26 g/l	300.000 BC
Testigo absoluto	350. 000 C

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

**Tabla 11. Valores promedios de la concentración de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*, bajo diferentes momentos de aplicación de productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

Momentos	Valores promedios
Momento 2	240.000A
Momento 3	290.000 B
Momento 1	313.500 B

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

Sin embargo, para poder identificar cual es la interacción más indicada, se realizó un análisis de varianza de una vía para las diferentes interacciones, confirmando la existencia de diferencias altamente significativas entre los tratamientos, más no entre los bloques o repeticiones (Tabla 12).

**Tabla 12. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados por su efecto sobre la concentración de conidias (conidias/ml) *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen		Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Intersección	Hipótesis	1422,422	1	1422,422	2064,806	,000	1,000
	Error	1,378	2	,689			
Tratamientos	Hipótesis	71,244	14	5,089	8,930	,000	1,000
	Error	15,956	28	,570			
Bloque	Hipótesis	1,378	2	,689	1,209	,314	,842
	Error	15,956	28	,570			

R cuadrado = ,883 (R cuadrado corregida = ,737)

a. Calculado con alfa = ,05

Al realizar la prueba de promedios de Tukey, se encontró que las aplicaciones de Ácido Acético al 20% antes o después de la siembra de *Mycosphaerella fijiensis*, indujeron una menor concentración de conidias, con diferencias estadísticas con los demás tratamientos; la aplicación de este mismo producto al 10% siguió en mayor eficiencia al ser aplicado 48 horas antes de la siembra del hongo (Tabla 13). Lo que fue evidente es que el Momento dos, resultó el más indicado para reducir esta variable biológica del hongo, ya que incluso en el caso de Sulfato de Potasio, un mejor resultado se obtuvo con este momento de aplicación (Tabla 13).

En términos generales, el Sulfato de Potasio en ambas concentraciones no fue diferente estadísticamente al tratamiento testigo (Tabla 13), lo que indica que no hubo ningún efecto de este tipo de producto sobre la multiplicación o reproducción del patógeno.

**Tabla 13. Valores promedios de la concentración de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo diferentes tratamientos y momentos *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Tratamientos	Valores promedios
Ácido Acético 20% + momento 2	166.500 A
Ácido Acético 20% + momento 3	166.500 A
Ácido Acético 10% + momento 2	216.500 AB
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 2	233.500 B
Ácido Acético 10% + momento 1	250.000 BC
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 2	250.000 BC
Ácido Acético 10% + momento 3	300.000 CD
Ácido Acético 20% + momento 1	300.000 CD
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 3	300.000 CD
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 1	300.000 CD
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 3	316.500 D
Testigo + momento 2	333.500 DE
Testigo + momento 1	350.000 EF
Testigo + Momento 3	366.500 F
Sulfato de Potasio Potasio 26 g/l + Momento 1	366.500 F

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ).

### **7.1.3 Porcentaje de conidias viables de *Mycosphaerella fijiensis***

El análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas para la interacción de los factores y para cada uno de ellos de manera independiente (Tabla 14).

Al analizar separadamente cada factor, se encontró que el Ácido Acético en sus dos concentraciones indujo un menor porcentaje de conidias viables, siendo estadísticamente diferente al Sulfato de Potasio y el testigo. El Sulfato de Potasio no fue diferente estadísticamente al testigo, permitiendo inferir que este producto no ejerce ninguna acción sobre el hongo en estudio (Tabla 15).

En cuanto a los momentos, todos fueron diferentes estadísticamente entre sí, obteniendo un mejor efecto en la pérdida de viabilidad de las conidias cuando los productos son aplicados 48 horas después de la siembra del patógeno (Tabla 16).

**Tabla 14. Análisis de Varianza para las conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro* con productos individuales y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Productos	9970,533	4	2492,633	98,049	,000	1,000
Momentos	5973,644	2	2986,822	117,489	,000	1,000
Productos *	6291,467	8	786,433	30,935	,000	1,000
Momentos						
Error	762,667	30	25,422			
Total	280492,000	45				
Total corregida	22998,311	44				

R cuadrado = ,967 (R cuadrado corregida = ,951)

a. Calculado con alfa = ,05

Contraste de Levene: F=10,355 (Sig=0,100)

Shapiro-Wilk: Estadístico=0,947 (Sig=0,059)

Kolmogorov-Smirnov: Estadístico=0,144(Sig=0,090)



**Tabla 15. Valores promedios de conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis*, ante diferentes productos, evaluados a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Productos	Valores promedios
Ácido Acético 10%	53,56 A
Ácido Acético 20%	62,22 B
Testigo absoluto	84,78 C
Sulfato de Potasio 26 g/l	86,78 C
Sulfato de Potasio 53 g/l	90,89 C

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 16. Valores promedios de conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*, bajo diferentes momentos de aplicación de productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

Momentos	Valores promedios
Momento 2	59,67 A
Momento 1	80,87 B
Momento 3	86,40 B

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ).

Para lograr conocer cuál fue la combinación de producto y momento que afectó mayormente la viabilidad de las conidias del hongo, se realizó un análisis de varianza de una vía para las diferentes interacciones. Se confirmó las diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Tabla 17).

**Tabla 17. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados por su efecto sobre la viabilidad de conidias (%) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen		Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Intersección	Hipótesis	257493,689	1	257493,689	23793,051	,000	1,000
	Error	21,644	2	10,822			
Tratamientos	Hipótesis	22235,644	14	1588,260	60,013	,000	1,000
	Error	741,022	28	26,465			
Bloque	Hipótesis	21,644	2	10,822	,409	,314	1,000
	Error	741,022	28	26,465			

R cuadrado = ,883 (R cuadrado corregida = ,737)

a. Calculado con alfa = ,05

Al realizar la prueba de promedios de Tukey, se encontró que las aplicaciones de Ácido Acético al 10% 48 horas después de la siembra de *Mycosphaerella fijiensis*, indujeron una menor viabilidad de conidias, con un 5,6% de conidias viables, con diferencias estadísticas con los demás tratamientos; la aplicación de este mismo producto al 20% siguió en mayor eficiencia al ser aplicado 48 horas después de la siembra del hongo (Tabla 18). Lo que también fue evidente es que el Ácido Acético superó al Sulfato de Potasio en cualquier momento de aplicación, aunque en algunos casos estadísticamente no son tan claras las diferencias (Tabla 18). Se ratificó que el Sulfato de Potasio no presentó diferencias con el testigo, independiente de los momentos de aplicación, ratificando que éste producto no ejerce ningún efecto sobre el patógeno (Tabla 18).

**Tabla 18. Valores promedios de la viabilidad de conidias (%) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo diferentes tratamientos y momentos *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

<b>Tratamientos</b>	<b>Valores promedios</b>
Ácido Acético 10% + momento 2	5,7 A
Ácido Acético 20% + momento 2	50,0B
Ácido Acético 20% + momento 1	67,0C
Ácido Acético 20% + momento 3	69,77 CD
Ácido Acético 10% + momento 1	72,3 CDE
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 2	78,33 CDEF
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 2	79,33 CDEF
Ácido Acético 10% + momento 3	82,67 DEFG
Testigo + Momento 3	84,33 DEFG
Testigo + Momento 1	85,0 DEFGH
Testigo + Momento 2	85,0 DEFGH
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 1	86,67 EFGH
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 1	93,33 FGH
Sulfato de Potasio 26 g/l + Momento 3	95,33 GH
Sulfato de Potasio 53 g/l + Momento 3	100,0 H

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ).

#### 7.1.4. Discusión de los resultados

Autores como Russo *et al.* (2010), describen que bajas concentraciones de ácido paracético (0,05%) cuyo compuesto es el Ácido Acético, puede llevar a cabo la reducción en la carga de esporas de mohos tales como *Alternaria alternata*, *Fusarium graminearum*, especies de *Aspergillus* y *Penicillium expansum*, comunes agentes causantes de pudrición de frutas y hortalizas.

Garmendia y Vero (2006), experimentaron de forma *in vitro* el efecto curativo de sustancias naturales como el Ácido Acético sobre heridas inoculadas en cascaras de naranja con esporas de *Penicillium*, donde se sumergían a una concentración de 4% en dicho producto, el cual tuvo un muy buen control de la pudrición, pero se recomendó ser utilizado nuevamente en una menor concentración.

Cruz *et al.* (2010), emplearon filtrados de cultivo de dos cepas de *Bacillus* sp. (CCIBP-B.1 y CCIBP-M27) con actividad antifúngica *in vitro* frente a *M. fijiensis* y conformaron dos tratamientos: aplicación de los filtrados de cultivo bacterianos tres horas antes y tres días posteriores a la inoculación de *M. fijiensis*. Se comprobó que la aplicación de filtrados de cultivo bacterianos tuvo efecto retardante sobre el desarrollo de la enfermedad y que este dependió de la cepa y del momento de aplicación. Por lo anterior, comprobamos que el momento de aplicación de un producto incide en la efectividad de productos o tratamientos sobre un agente patógeno.

En estudios de Mogollón y Castaño (2012), el desarrollo *M. fijiensis in vitro*, no demostró una inhibición absoluta con la aplicación de fosfito de Potasio, un fertilizante a base de Potasio; sólo algunas reducciones en los valores promedio del número y tamaño de colonias, producción de conidias y germinación, a pesar de la alta concentración evaluada (27 ml l<sup>-1</sup>), lo que indica que este producto interviene en la activación del sistema de defensas de las plantas, sin actuar directamente sobre los patógenos.

Por otro lado, se evidenció que los contenidos de azufre en el sulfato de potasio no son suficientes para afectar el crecimiento micelial y reproducción del hongo, a pesar de que muchos fungicidas tienen como elemento principal este elemento.

Para *Mycosphaerella fijiensis*, no se ha encontrado aun literatura que indique el efecto inhibidor del Ácido Acético y el Sulfato de Potasio como tal, para su control. Sin embargo, en este estudio fue notorio el efecto inhibitorio del Ácido Acético al 10%, con respecto al tratamiento testigo (Figura 9).



**Figuras 9. Crecimiento *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis* en medio PAA y con discos de productos. A- Crecimiento del testigo absoluto. B- Enfrentamiento con los productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

## 7.2 EFECTO DE PRODUCTOS EN MEZCLAS

### 7.2.1 Crecimiento micelial de *Mycosphaerella fijiensis*

Los análisis estadísticos mostraron diferencias altamente significativas para la interacción de los factores y de cada uno de ellos por separado (Tabla 19). Quiere decir que el crecimiento del hongo está influenciado por la aplicación oportuna de una o varias de las mezclas evaluadas; sin embargo, en efecto el análisis indicó que de manera separada, hay momentos y mezcla de productos que superaron a otros.

Las pruebas de promedio de cada factor por separado indicó que la mezcla que incluyó la concentración más alta de Ácido Acético y Sulfato de Potasio registró el menor crecimiento micelial del hongo con 1,81 cm, siendo estadísticamente diferente a las mezclas que incluyeron la menor concentración de Ácido Acético y el testigo. Entre las dos mezclas que incluyeron Ácido Acético al 20% no hubo diferencias estadísticas, lo que demostró que el efecto de la mezcla se debe a la acción del Ácido Acético y no del Sulfato de Potasio, confirmando lo registrado en el ensayo de productos individuales. En el caso de las mezclas que contenían Ácido Acético al 10%, no se presentaron diferencias estadísticas al variar las concentraciones de Sulfato de Potasio, pero si fueron estadísticamente diferentes al testigo (Tabla 20).

Con respecto al momento de aplicación, se ratificó que la aplicación de las mezclas de los dos productos 48 horas después de la siembra, permitió un menor crecimiento micelial de *Mycosphaerella fijiensis*. Un mejor efecto se logró cuando los productos se aplicaron previamente que de manera simultánea con la siembra del patógeno (Tabla 21).

**Tabla 19. Análisis de Varianza para el crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro* con mezcla de productos y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Mezcla de Productos	15,070	4	3,767	6,187	,001	,972
Momentos	43,683	2	21,842	35,871	,000	1,000
Mezcla de Productos *	23,177	8	2,897	4,758	,001	,988
Momentos						
Error	18,267	30	,609			
Total	420,730	45				
Total corregida	100,196	44				

R cuadrado = ,818 (R cuadrado corregida = ,733)

a. Calculado con alfa = ,05

Contraste de Levene: F=1,990 (Sig=0,06)

Shapiro-Wilk: Estadístico=0,989 (Sig=0,938)

Kolmogorov-Smirnov: Estadístico=0,073(Sig=0,200)



**Tabla 20. Valores promedios de crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis*, ante diferentes mezcla de productos, evaluados a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Mezcla de Productos	Valores promedios
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l	1,81 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l	2,49AB
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l	2,63 B
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l	2,80 B
Testigo absoluto	3,61 C

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

**Tabla 21. Valores promedios de crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo diferentes momentos de aplicación de mezcla de productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

Momentos de aplicación	Valores promedios
Momento 2	1,65 A
Momento 3	2,36 B
Momento 1	4,0C

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

Para comprender el efecto de la interacción, se realizó un análisis de varianza de la combinación de factores aplicando el procedimiento de ANOVA de una vía. Este análisis indicó diferencias altamente significativa entre los tratamientos (combinación de productos y momentos) (Tabla 22).

La prueba de Tukey indicó que la aplicación de Ácido Acético al 20% mas Sulfato de Potasio en concentración de 53 g/l, colocado 48 horas después de la siembra del hongo patógeno, fue el mejor tratamiento para reducir el crecimiento micelial del hongo, con un valor promedio de 0,77 cm a los 15 días después de la siembra del hongo (Tabla 23). Se encontró que los valores más bajos se obtuvieron cuando se hizo la aplicación de las mezclas 48 horas después de la siembra del hongo, independiente de las mezclas en evaluación. Los valores registrados con la aplicación de las mezclas de manera simultánea con la siembra del hongo no fue diferente a los testigos absolutos, lo que evidenció que el momento de aplicación es un factor decisivo en la eficiencia de los productos evaluados (Tabla 23).

Con relación a las mezclas, quedó claro que entre las concentraciones de Ácido Acético, un menor crecimiento micelial se logró con la concentración más alta, manteniendo igual concentración de la fuente de Potasio; sin embargo, al mantener una misma concentración de Ácido Acético, las dos concentraciones de Sulfato de Potasio no marcaron diferencias significativas entre sí. La aplicación de Sulfato de Potasio no ejerce ningún efecto sobre el hongo (Tabla 23).

**Tabla 22. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados, por su efecto sobre el crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Intersección	Hipótesis	320,534	1	320,534	410,823	,002	1,000
	Error	1,560	2	,780			
Tratamientos	Hipótesis	81,930	14	5,852	9,808	,000	1,000
	Error	16,706	28	,597			
Bloque	Hipótesis	1,560	2	,780	1,308	,286	,259
	Error	16,706	28	,597			

R cuadrado = ,883 (R cuadrado corregida = ,737)

a. Calculado con alfa = ,05

**Tabla 23. Valores promedios del crecimiento micelial (cm) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo el efecto combinado de mezclas de productos y momentos de aplicación, a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Tratamientos	Valores promedios
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l *	
momento 2	0,77 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l *	
momento 2	1,03 AB
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l *	
momento 2	1,37 B
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l	
*momento 2	1,37 B
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l	
*momento 3	1,40 B
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l	
*momento 3	1,60 B
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l	
*momento 3	2,23 BC
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l	
*momento 3	2,23 BC
Testigo + Momento 1	3,10 C
Testigo + Momento 2	3,13 CD
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l	
*momento 1	3,27 CD
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l	
*momento 1	4,07 DC
Testigo + Momento 3	4,60 E
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l	
*momento 1	4,77 E
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l	
*momento 1	4,80 E

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

### **7.2.2 Concentración de conidias de *Mycosphaerella fijiensis***

Los análisis estadísticos indicaron que hubo diferencias altamente significativas para la interacción de los factores mezcla de productos y momentos de aplicación; de igual modo para cada uno de los factores se encontró diferencias altamente significativas, lo que significa que la variable en estudio fue afectada por la interacción momento de aplicación y producto aplicado; aunque hay un efecto marcado de manera separada por los productos y por el momento en que se aplicaron (Tabla 24).

Al revisar la prueba de Tukey de los factores, se encontró que la mezcla de los productos superó al testigo absoluto, indicando que los tratamientos incidieron sobre la capacidad esporulativa del hongo (Tabla 25); no hubo claridad sobre cual mezcla es la de mejor impacto, aunque estadísticamente Ácido Acético al 10% mas Sulfato de Potasio 53 g/l y Ácido Acético al 20% mas Sulfato de Potasio 26 g/l, sin diferencias entre si sobresalieron por inducir un menor registro (Tabla 25).

Con relación a los momentos de aplicación, se confirma que la aplicación de las mezclas de productos 48 horas después de la siembra del hongo, resultó la mejor opción para reducir la capacidad de producir conidias del patógeno (Tabla 26). La aplicación simultánea fue el momento de aplicación que menor incide sobre la variable, registrando los valores más altos de la concentración de conidias (Tabla 26).

**Tabla 24. Análisis de Varianza para el número de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro* con mezcla de productos y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Mezcla de Productos	159,022	4	39,756	105,235	,000	1,000
Momentos	96,844	2	48,422	128,176	,000	1,000
Mezcla de Productos *	62,044	8	7,756	20,529	,000	1,000
Momentos						
Error	11,333	30	,378			
Total	949,000	45				
Total corregida	329,244	44				

R cuadrado = ,966 (R cuadrado corregida = ,950)

a. Calculado con alfa = ,05

Contraste de Levene: F=2,122 (Sig=0,081)

Shapiro-Wilk: Estadístico=0,930 (Sig=0,080)

Kolmogorov-Smirnov: Estadístico=0,211(Sig=0,075)

**Tabla 25. Valores promedios del número de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis*, ante diferentes mezcla de productos, evaluados a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Mezcla de Productos	Valores promedios
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l	900 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l	1.100 <sup>a</sup>
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l	1.550 B
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l	2.200 C
Testigo absoluto	3.500 D

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

**Tabla 26. Valores promedios del número de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo diferentes momentos de aplicación de mezcla de productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

Momentos de aplicación	Valores promedios
Momento 2	1.050 A
Momento 3	1.650 B
Momento 1	2.850C

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

Para definir la mejor combinación de mezcla de productos y momento de aplicación, se realizó un análisis de varianza de la combinación de factores aplicando el procedimiento de ANOVA de una vía. Este análisis indicó diferencias altamente significativa entre los tratamientos (combinación de productos y momentos) (Tabla 27).

La prueba de Tukey indicó que la aplicación de las mezclas en las distintas concentraciones, no presentaron diferencias estadísticas entre sí cuando se aplicaron 48 horas después de la siembra del hongo. Sin embargo, con base en el análisis de productos individuales, al parecer es el Ácido Acético y no la fuente de Potasio la que está relacionada con una menor cantidad de conidias (Tabla 28). Se encontró que el momento de aplicación fue un factor decisivo en la eficiencia de los productos evaluados.



**Tabla 27. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados, por su efecto sobre el número de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Intersección	Hipótesis	619,756	1	619,756	569,163	,002	1,000
	Error	2,178	2	1,089			
Tratamientos	Hipótesis	317,911	14	22,708	69,447	,000	1,000
	Error	9,156	28	,327			
Bloque	Hipótesis	2,178	2	1,089	3,330	,050	,582
	Error	9,156	28	,327			

R cuadrado = ,883 (R cuadrado corregida = ,737)

a. Calculado con alfa = ,05

**Tabla 28. Valores promedios del número de conidias (conidias/ml) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo el efecto combinado de mezclas de productos y momentos de aplicación, a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Tratamientos	Valores promedios
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l - momento 2	0,0 A
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 2	0,0 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 2	0,0 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 2	350 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 3	500 AB
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 3	1.650 B
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 3	2.000 B
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 1	2.350 BC
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 1	2.350 BC
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 3	2.350 BC
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 1	3.000 CD
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 1	3.000 CD
Testigo + Momento 2	3.350 D
Testigo + Momento 1	3.500 D
Testigo + Momento 3	3.500 D

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ )

### **7.2.3 Porcentaje de conidias viables de *Mycosphaerella fijiensis***

Hubo diferencias altamente significativas para la interacción de factores y para cada uno de ellos de manera individual (Tabla 29). Lo anterior indica que se requiere aplicar uno o varios productos en mezcla en el momento oportuno para lograr incidir sobre la viabilidad de las conidias.

Al analizar por separado los factores, se encontró que las mezclas de Ácido Acético al 10% y Sulfato de Potasio en concentración de 53 g/l , y el momento 2 de aplicación (mezclas depositadas después de 48 horas de siembra del patógeno) indujeron la menor cantidad de conidias viables, siendo estadísticamente diferente a los demás tratamientos (Tablas 30 y 31).

**Tabla 29. Análisis de Varianza para las conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro* con productos en mezclas y diferentes momentos de aplicación. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada <sup>a</sup>
Mezcla de Productos	7,728	4	1,932	208,437	,000	1,000
Momentos	2,396	2	1,198	129,243	,000	1,000
Mezcla de Productos *	2,829	8	,354	38,152	,000	1,000
Momentos						
Error	,278	30	,009			
Total	59,479	45				
Total corregida	13,231	44				

R cuadrado = ,967 (R cuadrado corregida = ,951)

a. Calculado con alfa = ,05

Contraste de Levene: F=9,275 (Sig=0,008)

Shapiro-Wilk: Estadístico=0,573 (Sig=0,008)

Kolmogorov-Smirnov: Estadístico=0,290(Sig=0,007)

**Tabla 30. Valores promedios de conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis*, ante diferentes mezcla de productos, evaluados a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Mezcla de Productos	Valores promedios
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l	0,0 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l	11,3 B
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l	45,2 C
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l	52,2 C
Testigo	84,8 D

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

**Tabla 31. Valores promedios de conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo diferentes momentos de aplicación de mezcla de productos. Universidad del Magdalena. 2013.**

Momentos de aplicación	Valores promedios
Momento 2	17,0 A
Momento 1	46,5 B
Momento 3	52,7 B

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ).

No obstante, para clarificar el efecto de las interacciones, se realizó un análisis de una vía considerando cada interacción de factores como un tratamiento, encontrando diferencias altamente significativa entre ellos (Tabla 32).

**Tabla 32. Análisis de varianza para la interacción de factores evaluados, por su efecto sobre conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis* en pruebas de control *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Origen		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Potencia observada
Intersección	Hipótesis	46,249	1	46,249	5867,450	,000	1,000
	Error	,016	2	,008			
Tratamientos	Hipótesis	12,953	14	,925	98,762	,000	1,000
	Error	,262	28	,009			
Bloque	Hipótesis	,016	2	,008	,841	,442	,582
	Error	,262	28	,009			

R cuadrado = ,883 (R cuadrado corregida = ,737)

a. Calculado con alfa = ,05

La prueba de comparación de promedios según Tukey, evidenció que es el momento dos de aplicación el que potencializa el efecto de las mezclas evaluadas (Tabla 33). Las mezclas indujeron una menor viabilidad de las conidias, en comparación con el testigo; sin embargo, con base en los resultados del ensayo de productos individuales, el efecto de las mezclas estaría inducido por el Ácido Acético.

**Tabla 33. Valores promedios de conidias viables (%) de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo el efecto combinado de mezclas de productos y momentos de aplicación, a nivel *in vitro*. Universidad del Magdalena. 2013.**

Tratamientos	Valores promedios
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 2	0,0 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 2	0,0 A
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 2	0,0 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 2	0,0 A
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 3	0,0 A
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 3	0,0 A
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 1	32 B
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 1	34 B
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 1	66 C
Ácido Acético 10% +Sulfato de Potasio 26 g/l *momento 3	69,7 CD
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l *momento 1	78,3 CD
Ácido Acético 20% +Sulfato de Potasio 53 g/l +momento 3	78,3 CD
Testigo +Momento 3	84,3 D
Testigo +momento 1	85 D
Testigo +momento 2	85 D

Valores con letras en común no presentan diferencias estadísticas entre sí, según la prueba de Tukey; en caso contrario presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ).



#### 7.2.4. Discusión de resultados

Recalcamos la importancia del Ácido Acético como el producto con mejor comportamiento inhibitorio de *M. fijiensis* bajo condiciones de laboratorio, ya que este se ha utilizado durante muchos años en la industria alimentaria por tratar de inhibir el crecimiento microbiano y como un acidulante (Doores, 1990, 1993- Citado por Sholberg, 2009). El modo de acción de un ácido está relacionado con la parte no disociada de la molécula y es más importante que cualquier cambio en el pH provocado por la adición de ácido (Sholberg, 2009).

El Ácido Acético es un potente fumigante, ya que existe en forma de mezclas de monómeros y dímeros no disociadas (Seaton, 1993-Citado por Sholberg 2009). Formas disociadas de ácidos débiles no son absorbidas por los microorganismos en gran medida (Doores, 1990- Citado por Sholberg 2009). La investigación muestra que los ácidos orgánicos de cadena corta tales como Ácido Acético afectan a la membrana celular al interferir con el transporte de metabolitos y el mantenimiento del potencial de membrana (Freese et al 1973;. Davidson y Juneja 1990- Citados por Sholberg 2009).

El efecto inhibitor es debido a la conducción de protones a través de membranas, destruyendo con eficacia la fuerza motriz de protones que se necesita para el transporte de sustrato (Freese y Levin, 1978- Citados por Sholberg 2009).

El Ácido Acético (AA) de vapor aplicado a 0.78ml/kg a alto contenido de humedad de los granos inoculadas con conidios de *Aspergillus flavus*, puede prevenir eficazmente el crecimiento del hongo durante 120 días a 20 ° C (Sholberg y Guance, 1996 -Citados por Saleh, 2008). Sin embargo, en nuestro estudio el mejor efecto del Ácido Acético, ocurre como tratamiento terapéutico.

## 8. CONCLUSIONES

El manejo *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis* se puede realizar con productos alternativos de bajo impacto ambiental, entre ellos el Ácido Acético. Independiente de las dos concentraciones utilizadas, se observó un efecto sobre el crecimiento micelial y capacidad esporulativa del hongo, especialmente cuando se aplica después de que el hongo ha iniciado su colonización (desarrollo micelial).

El Sulfato de Potasio no resultó ser una buena opción para reducir el desarrollo y producción de conidias de *Mycosphaerella fijiensis*. No obstante, no se debe descartar su evaluación como inductor de resistencia por parte de la planta al patógeno. Los contenidos de azufre en el sulfato de potasio evaluado no se reflejaron en acción antimicótica.

Referente al momento de aplicación, con M2 (Primero el patógeno y después de 48 horas, los productos) se logró menor crecimiento micelial y esporulación del hongo, debido que el ácido tiene un efecto terapéutico mas que preventivo.

## 9. RECOMENDACIONES

Para posteriores estudios sobre el manejo de *Mycosphaerella fijiensis* se recomienda realizar evaluaciones en campo a plantaciones de banano con presencia de la enfermedad, aplicando Ácido Acético y determinar el comportamiento y el efecto de este producto que en condiciones *in vitro* mostró efecto inhibitorio de crecimiento micelial y desarrollo conidial.

Se recomienda también evaluar el tiempo de aplicación en los momentos ya que esto puede ser un factor limitante por la degradación de los productos en el medio, es decir realizar pruebas no a las 48 horas después de la presencia del hongo sino a las 24 horas después.

Con base en los resultados obtenidos, realizar ensayos en campo, considerando el estado de desarrollo de la enfermedad. Es decir, si se podría reprimir la enfermedad en estado dos (manchas) o más avanzada.

## BIBLIOGRAFÍA

Abd-Alla. 2005. Effect of Acetic Acid Fumigation on Common Storage Fungi of Some Medicinal and Aromatic Seeds. *Egyptian Journal of Phytopathology* Vol 33 (1):77-86

Almeida B., Ohlmeier S., Almeida A., Madeo F., Leão C., Rodrigues F. & Ludovico P. 2009. Yeast protein expression profile during acetic acid-induced apoptosis indicates causal involvement of the TOR pathway. *Proteomics* Vol 9: 720–732.

Arneborg N., Moos M. & Jakobsen M. 1997. Induction of acetic acid tolerance and trehalose accumulation by added and produced ethanol in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Letters* Vol 19 (9): 931–933.

Arango O. 2002. Alternativas de manejo para el control biológico de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano (Musa AAA). In: Acrobat. Memorias XV. Reunión realizada en Cartagena de Indias, Colombia. 27 de octubre al 02 de noviembre Medellín (Col): Asociación de Bananeros de Colombia AUGURA. 130p.

Arango O. 2000. Manejo de sustratos para el control biológico de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el cultivo del banano (Musa AAA). Tesis maestría. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). Turrialba. Costa Rica. 102p.

Barrios M. 2006. Estudio de hongos endofíticos como inductores de resistencia para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano. Tesis de maestría en Agricultura Ecológica CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). Programa de educación para el desarrollo y la conservación escuela de posgraduados. Turrialba, Costa Rica. 1-13.

Belálcazar S. 1998. El cultivo del plátano en el trópico. Manual De Asistencia Técnica No. 50. Inibap. Quindío, Colombia. 93p.

Benavides A. 1998. El azufre en las plantas. Departamento de Horticultura, UAAAN, Saltillo 25315 México.

Benítez T., Rincón A., Limón C. y Codón C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. *International Microbiology* Vol (7):249-260.

Cañedo V. y Ames T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Lima, Perú, Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 40-44.

Carlier J., Foure E., Gauhl F., Jones D., Lepoivre P., Mourichon X., Pasberg-Gauhl C. and Romero R. 2000. Black leaf streak, in Diseases of Banana, Abacá and Enset. Jones, D.R. (ed.). CAB International. Wallingford. 37-79.

Chen Z., Silva H. y Klessig D. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid Science Vol (262): 1883-1886.

Chica R., Herrera M., Jiménez I., Lizcano S., Montoya J., Patiño L., Rodríguez P. y Ruiz L. 2004. Impacto Y Manejo De La Sigatoka negra En El Cultivo De Banano De Exportación En Colombia. XVI Reunión Internacional Acorbat 2004. Publicación Especial. 53-621.

Darvill A. y Albersheim P. 1984. Phytoalexins and their elicitors- A defense against microbial infection in plants. Annual Review Plant Physiological Vol 35:243-275.

Durrant W. y Dong. 2004. Systemic acquired resistance. Annual Review. Vol (42): 185-209.

Eshraghi L., Anderson N., Aryamanesh B., Shearer J., Macomb G. And P O'brien 2011. Phosphite primed defense responses and enhanced expression of defense genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. Plant Pathology Vol 60 (6): 1086-1095.

FRAC (Fungicide Resistance Action Committee). 2004. In: <http://www.frac.info/frac.html>.

Fouré E. 1985. Les Cercosporiose du bananier et leur traitement. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* au Gabon Fruits 40:393-399.

Garmendia G. y Vero S. 2006. Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas. Horticultura Vol 197:18 – 27.

Guzmán M. 2002. Situación De La Sigatoka negra En Costa Rica Y Opciones Para El Manejo De La Enfermedad. In: Acrobat. Memorias XV. Reunión realizada en

Cartagena de Indias, Colombia. 27 de octubre al 02 de noviembre 2002. (Col): Asociación de Bananeros de Colombia AUGURA. 184-185.

Guzmán M. y Romero R. 1997. Evaluación de tres aceites agrícolas utilizados para el combate de la Sigatoka negra en el cultivo del banano., in Corporación Bananera Nacional, Informe anual 1996. Costa Rica. San José. 56-57.

Hammerschmidt R. y Smith R. 2000. A survey of plant defense responses to pathogens. In: Induced plant defenses against pathogens. 55-71.

Harman G. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Diseases. Vol 84: 377-393.

Howell C. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease Vol 87 (1): 4-10.

Idrogo F., Moises E. y Belloso G. 2010. Efecto del Tratamiento Post-Cosecha en el Control de Hongos de Frutos de Lechosa (*Carica Papaya* L.) Variedad Marado. Tesis de grado. Tecnología de los Alimentos. Universidad de Oriente Núcleo-Monagas. 634-651.

Ivancovich A. 1996. Manejo de enfermedades. En: Bota, G., Ivancovich, A., Ploper, L., y Laguna, I. (Eds.) Enfermedades de la Soya. Manual de Diagnóstico y Manejo, INTA CRBAN EEA Pergamino.15-32.

Krauss A. 2001. Potassium and biotic stress. Presented at the 1st FAUBAFERTILIZAR-IPI Workshop on Potassium in Argentina's Agricultural Systems.20-21 November. Buenos Aires. Argentina. International Potash Institute (IPI). 102 p.

Kyanko M., Russo M., Fernández M. y Pose G. 2010. Efectividad del Ácido Peracético sobre la reducción de la carga de Esporas de Mohos causantes de Pudrición Poscosecha de Frutas y Hortalizas. Información Tecnológica Vol 21 (4):125-130.

Latch G. 1993. Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts. Biotic stress tolerance imparted to grasses by endophytes. Agriculture, Ecosystems and Environments Vol 44:143-156.

- López N. y Castaño J. 2011. Manejo Integrado Del Mildeo Velloso (*Peronospora sparsa* Berkeley) De La Rosa. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Fitopatología Colombiana Vol 35 (1): 27-32.
- Marín D. y Corrales O. 1992. Sistema de preaviso simplificado para el combate de la Sigatoka negra en plátano, in Corporación Bananera Nacional, Informe anual 1991. San José, Costa Rica. 90-91.
- Marin D., Romero R., Guzmán M. y Sutton T. 2003. Black Sigatoka and increasing threat to banana cultivation. Plant Disease Vol 87 (3):117-128.
- Marín D., Ching, L. D. y Romero, R. A. 1992. Efecto de la Sigatoka negra sobre la productividad del plátano, in Corporación Bananera Nacional, Informe anual 1991. San José, Costa Rica. 85- 86.
- Mejía C. 1992. La alelopatía o las afinidades y rechazos de las plantas. Carta Ganadera Vol 29 (2): 11-13.
- Molina F. 2008. Evaluación de diferentes fuentes de potasio para reducir el doblamiento de las hojas de palma de aceite (*Elaeis guinnensis* Jacq.) y sus efectos en la producción bajo las condiciones agroecológicas del municipio del Copey-Cesar. Tesis de grado. Universidad del Magdalena. 50 p.
- Cruz M., Alvarado Y., Acosta M., Roque B. y Leiva M. 2010. Efecto de filtrados cultivo bacterianos con actividad antifúngica in vitro en la interacción Musa spp. Biotecnología Vegetal Vol 10 (2): 99 - 104.
- Mogollón A. y Castaño J. 2012. Evaluación in vitro de Inductores de Resistencia sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín Vol 65 (1): 6327-6336.
- Morales L. 1997. Evaluación del potencial insecticida de cinco especies forestales. Tesis (Maestría en Entomología, Ingeniería Forestal), Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. 5-7, 11-16, 34-36.
- Plaster J. 2004. La ciencia del suelo y su manejo. Editorial Thomson. 199-200.

Pérez L. 2006. Manejo Convencional Y Alternativo De La Sigatoka negra En Bananos: Estado Actual Y Perspectivas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.Cuba.Fitosanidad Vol 10 (1): 55-72.

Pérez L., Álvarez J. y Pérez M. 2002B: Economic Impact and Management of Black Leaf Streak Disease in Cuba, *Mycosphaerella* Leaf Spot Diseases of Bananas: Present Status and Outlook. Proceedings of the 2nd.International Workshop on *Mycosphaerella* Leaf Spots Diseases, San José, Costa Rica, 2002b.71-84.

Pocasangre L., Menjivar R., Zum A., Riveros A., Rosales F. y Sikora R . 2006. Hongos endofíticos como agentes biológicos de control de fitonematodos en banano. En: Memorias XVII Reunión Internacional Acorbat. Joinville, SC, Brasil. Bananicultura: un negocio sostenible. Soprano, E, Tcacenco, FA. 345-350.

Porcuna J, 2010. Azufre. Ficha técnica de insumos. Servicio de sanidad vegetal. Valencia, España. 102 p.

Rey M., Delgado-Jarana J. y Benítez, T. 2001. Improved antifungal activity of a mutant of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 which produces more extracellular proteins. Applied Microbiology And Biotechnology Vol 55:604-608.

Riveros A. 2001. Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. Revista Manejo Integrado de Plagas. 61:4-11.

Riveros A. 2002. Bases bioquímicas de la resistencia en plantas. En: Memoria Taller Internacional Inducción de Resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas. Riveros, AS, Pocasangre, LE, Rosales, F. (eds.). CATIE, Turrialba. CR. 13-23.

Saleh, 2008. Prevention and Control of Fungi Contaminated Stored Pistachio Nuts Imported to Saudi Arabia. X. The Official Journal of the Saudi Biological Society. Saudi Journal of Biological Sciences Vol 15 (1):105-112.

Sampietro D. 2002. Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. In: <http://fai.unne.edu.ar/biología/alelopatia.htm>.



- Sharon E., Bar-Eyal M., Chet I., Herra-Estrella A., Kleifield O. y Spiegel Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*. Vol 91:687- 693.
- Sholberg P. 2009. Control of Postharvest Decay by Fumigation with Acetic Acid or Plant Volatile Compounds. *Fresh Produce*. Global Science Books. 33-46.
- Sholberg P. y Guance A. 1996. Fumigation of high moisture seed with acetic acid to control storage mold. *Canadian Journal of plant Science*. 76(3):551-556.
- Stauffer B., Orrego F. y Aquino J. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. *Revista de Ciencia y Tecnología*. Universidad Nacional de Asunción Vol 1 (2): 29-33.
- Stover R. 1980. Sigatoka Leaf Spots of Bananas and Plantains, *Plant Disease Reporter* 64:750-756. Effet du Cercosporan oir sur les plantains en Amérique Centrale *Fruits* 38:326-329, 1983.
- Souza A., Filho A., Pinheiro B., Sarquis M., Pereira J. 2004. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens benth*am. *Acta Amazônica* Vol 34 (2): 185-195.
- Viveros J. y Castaño J. 2006. Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Agronomía Universidad de Caldas* Vol 14 (1): 37-50.
- Wingrove A. y Caret R. 1999. Química orgánica. Oxford University Press. 1016-1032.

# ANEXOS

**Anexo. 1 Formato de registro para evaluación *in vitro* de los productos sobre *Mycosphaerella fijiensis*. Universidad del Magdalena. 2013.**

TRATAMIENTO	Factor 1	Factor 2	Factor 3	B L O Q U E	CRECIMIENTO MICELIAL (cm)							Numero de conidias (conidias/ml)	% Viabilidad Conidias	
	M O M E N T O	A.A. %	KSO <sub>4</sub> g/l		por días evaluados									
					2	4	6	8	10	12	15			
1				1										
				2										
				3										
2				1										
				2										
				3										
3				1										
				2										
				3										
4				1										
				2										
				3										
5				1										
				2										
				3										
6				1										
				2										

				3									
7				1									
				2									
				3									
8				1									
				2									
				3									
9				1									